

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7408098号
(P7408098)

(45)発行日 令和6年1月5日(2024.1.5)

(24)登録日 令和5年12月22日(2023.12.22)

(51)国際特許分類		F I	
C 1 2 N	15/54 (2006.01)	C 1 2 N	15/54
C 1 2 N	9/12 (2006.01)	C 1 2 N	9/12
C 1 2 Q	1/48 (2006.01)	C 1 2 Q	1/48
C 1 2 Q	1/6844(2018.01)	C 1 2 Q	1/6844
C 1 2 P	19/34 (2006.01)	C 1 2 P	19/34
		Z N A	
		Z	
		Z	
		A	
請求項の数 19 (全239頁)			

(21)出願番号	特願2020-509060(P2020-509060)	(73)特許権者	513084469
(86)(22)出願日	平成30年8月17日(2018.8.17)		モデルナティエックス インコーポレイ
(65)公表番号	特表2020-532963(P2020-532963		テッド
	A)		ModernaTX, Inc.
(43)公表日	令和2年11月19日(2020.11.19)		アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチュー
(86)国際出願番号	PCT/US2018/046989		セッツ州 ケンブリッジ テクノロジー
(87)国際公開番号	WO2019/036682		スクエア 2 0 0
(87)国際公開日	平成31年2月21日(2019.2.21)	(74)代理人	100188558
審査請求日	令和3年8月17日(2021.8.17)		弁理士 飯田 雅人
(31)優先権主張番号	62/547,677	(74)代理人	100195796
(32)優先日	平成29年8月18日(2017.8.18)		弁理士 塩尻 一尋
(33)優先権主張国・地域又は機関		(72)発明者	エイミー・イー・ラビドー
	米国(US)		アメリカ合衆国・マサチューセッツ・0
(31)優先権主張番号	62/628,484		2 4 5 1・ウォルサム・ボンド・ストリ
(32)優先日	平成30年2月9日(2018.2.9)		ート・1 2 1・ユニット・1
最終頁に続く		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】	R N Aポリメラーゼバリエント
-------------	------------------

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

T7リボ核酸(RNA)ポリメラーゼバリエントであって、配列番号1と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列を含み、野生型T7 RNAポリメラーゼと比較して、前記T7 RNAポリメラーゼバリエントが開始複合体から伸長複合体に移行するにつれて前記T7 RNAポリメラーゼバリエントのループ構造にヘリックス構造へのコンフォメーション変化を受けさせるアミノ酸置換を含み、前記アミノ酸置換がG47位のアラニン(G47A)である、前記リボ核酸(RNA)ポリメラーゼバリエント。

【請求項2】

前記ループ構造が、Cヘリックス構造中にある、請求項1に記載のRNAポリメラーゼバリエント。

【請求項3】

前記ループ構造が、Cリンカー構造中にある、請求項1に記載のRNAポリメラーゼバリエント。

【請求項4】

前記T7 RNAポリメラーゼが、E42、S43、Y44、E45、M46、A255、R257、A258、G259、A260、L261、及びA262から選択される位置に高ヘリックス性向アミノ酸のアミノ酸置換をさらに含むように修飾された配列番号

1 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 %、または 100 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の RNA ポリメラーゼバリエーション。

【請求項 5】

E 4 2、S 4 3、Y 4 4、E 4 5、M 4 6、A 2 5 5、R 2 5 7、A 2 5 8、G 2 5 9、A 2 6 0、L 2 6 1、及び A 2 6 2 から選択される少なくとも 1 つの位置にアミノ酸置換をさらに含むように修飾された配列番号 1 と少なくとも 90 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 4 に記載の RNA ポリメラーゼバリエーション。

【請求項 6】

前記アミノ酸置換が、アラニン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、リジン、グルタミン、及びグルタミン酸から選択される、請求項 4 又は 5 に記載の RNA ポリメラーゼバリエーション。

10

【請求項 7】

前記アミノ酸置換が、アラニン (S 4 3 A) である、請求項 6 に記載の RNA ポリメラーゼバリエーション。

【請求項 8】

追加の C 末端アミノ酸をさらに含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の RNA ポリメラーゼバリエーション。

【請求項 9】

前記追加の C 末端アミノ酸が、グリシン (G) を含む、請求項 8 に記載の RNA ポリメラーゼバリエーション。

20

【請求項 10】

前記 RNA ポリメラーゼバリエーションが、配列番号 1 1 0 のアミノ酸配列を含む、請求項 3 に記載の RNA ポリメラーゼバリエーション。

【請求項 11】

F A F A X_n (配列番号 1 7 1) モチーフを含む C 末端を含み、X が任意のアミノ酸であり、n がゼロより大きい任意の整数である、請求項 8 に記載の RNA ポリメラーゼバリエーション。

【請求項 12】

X A F A X_n モチーフ、F X F A X_n モチーフ、F A X A X_n モチーフ、または F A F X_n モチーフを含む C 末端を含み、各 X が任意のアミノ酸であり、n はゼロより大きい任意の整数である、請求項 11 に記載の RNA ポリメラーゼバリエーション。

30

【請求項 13】

RNA 転写物の生成をもたらす条件下で、DNA 鋳型を請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の RNA ポリメラーゼバリエーションと接触させることを含む、リボ核酸 (RNA) を生成する方法。

【請求項 14】

RNA 転写物の生成をもたらす条件下で、ヌクレオシド三リン酸及び緩衝液の存在下において、DNA 鋳型を請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の RNA ポリメラーゼバリエーションと接触させることを含む、インビトロ転写 (IVT) 反応を行う方法。

40

【請求項 15】

請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の RNA ポリメラーゼバリエーションをコードする核酸。

【請求項 16】

請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の RNA ポリメラーゼバリエーション及び任意選択によりインビトロ転写 (IVT) 試薬を含む、組成物またはキット。

【請求項 17】

RNA 転写物を生成するためのインビトロ転写反応条件下で、ポリヌクレオチド鋳型を請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載の T 7 RNA ポリメラーゼバリエーション、ヌクレオシド三リン酸、及びキャップ類似体と反応させることを含む、リボ核酸 (RNA) 合成の

50

ための共転写キャッピング方法。

【請求項 18】

前記キャップ類似体が、ジヌクレオチドキャップ、トリヌクレオチドキャップ、またはテトラヌクレオチドキャップである、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記トリヌクレオチドキャップが、G p p p A₂ o m e p G である、請求項 18 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、2017年8月18日に提出された米国仮出願第62/547,677号、2018年2月9日に提出された米国仮出願第62/628,484号、及び2018年3月5日に提出された米国仮出願第62/638,684号、2018年5月29日に提出された米国仮出願第62/677,527号の35 U.S.C. § 119(e) 下の利益を主張し、それらの各出願は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0002】

インビトロ転写 (IVT) は、バクテリオファージ DNA 依存性リボ核酸 (RNA) ポリメラーゼ (例えば、SP6、T3、及び T7) を使用して、鋳型に対する mRNA 転写物を合成する。IVT 反応における問題により、完全な失敗 (例えば、転写物が生成しない) またはサイズが正しくない (例えば、予想よりも短いまたは長い) 転写物となり得る。IVT 反応に関連する特定の問題には、例えば、アボर्टティブ (abortive) (切断型) 転写物、ランオン (run-on) 転写物、ポリ A テールバリエーション / 3' 不均一性 (heterogeneity)、変異転写物、及び / または反応中に生成される二本鎖混入物が含まれる。

【0003】

RNA ポリメラーゼは、転写の3つの段階 - 開始、伸長、及び終了を示す。開始段階では、RNA ポリメラーゼは、特定のプロモーター DNA 配列に結合し、DNA 二重鎖を開かせ、鋳型鎖を活性部位へと供給する。例えば、T7 RNA ポリメラーゼは、プロモーターと相互作用して DNA 二重鎖融解を開始する6つのヘリックス束のサブドメイン (プロモーター結合ドメイン) を含む開始複合体と呼ばれる構造を形成する。ポリメラーゼは、プロモーターに結合している間、2 ~ 12 ヌクレオチド (nt) の長さの短い多くの (切断型) 転写物を生成し、プロセスはしばしばアボर्टティブ合成 / 開始と呼ばれる。切断型 RNA 転写物は、RNA ポリメラーゼによって完全長の転写物に変換され得ず、転写中に蓄積する副産物となる。伸長段階への移行及びプロモーターのリリース後、ポリメラーゼは、DNA 鋳型へと働きかけ、完全長 RNA 転写物を生成する。

【0004】

伸長段階の間、RNA ポリメラーゼはしばしば、終了が開始されるべき位置を超えて DNA を転写し続け、予想よりも長い RNA 転写物 (「ランオン転写物」) を生成する。T7 RNA ポリメラーゼは、例えば、鋳型から「フォーリングオフする (falling off)」前に、ヌクレオチドを転写物の末端に追加する。研究では、T7 RNA ポリメラーゼによってインビトロで生成された転写物の70%超がランオン転写物であり得ることが示唆されている。いくつかの場合では、これらの異常な RNA 産物は、コードされた配列の2倍の長さである。ランオン転写は推計学的であるため、所与の IVT 反応における生成物中に多くの3' 不均一性がしばしば存在する。この3' 不均一性は、規定の長さ及び / またはヌクレオチド組成の RNA 転写物に依存するライゲーション反応などの下流での用途において問題になる。

【発明の概要】

【0005】

10

20

30

40

50

転写開始の際、RNAポリメラーゼは2つの相反する段階の平衡を保つ。ポリメラーゼはまず、2つのDNA鎖（そのうちの1つは鋳型鎖である）の解離を可能にするのに十分にしっかりとプロモーターと結合し、転写を開始する必要がある。次いで、ポリメラーゼはプロモーターをリリースし、高度にプロセッシブな（*processive*）伸長段階に入る必要がある。これらの2つの段階の間の競合により、アポティブな転写物が生成する。ポリメラーゼは繰り返しプロモーターを除こうとするが、移行障壁を克服することができず、短い（アポティブな）RNA産物を放出する。逆に、ポリメラーゼはしばしばDNA鋳型を「ランオフ」せず、3'不均一性を有するRNA転写物の集団を生成する。例えば、インビトロ転写（IVT）反応において生成される転写効率及び3'不均一性を増加させるバリエーションRNAポリメラーゼ、ランオン転写物、二本鎖混入物、またはそれらの任意の組み合わせが本明細書で提供される。

10

【0006】

開始から伸長への移行中に、RNAポリメラーゼは、アミノ末端ドメイン（N末端ドメイン）の大きな再配列を必要とするコンフォメーション変化を受ける（例えば、Bandwar, R P et al. *Journal of Biological Chemistry* 282, 22879 - 22886 (2009); Guillerez, J. et al. *Proc National Acad Sci* 102, 5958 - 5963 (2005); Durniak, K. et al. *Science* (New York, N.Y.) 322, 553 (2008); 及び Tahirov, T. H. et al. *Nature* 420, 43 - 50 (2002) を参照のこと、これらの各々は参照により本明細書に組み込まれる）。このN末端ドメイン内には、「Cヘリックス」（例えば、T7 RNAポリメラーゼのアミノ酸28～71）及び「Cリンカー」（例えば、T7 RNAポリメラーゼのアミノ酸258～266）があり、その各々が、RNAポリメラーゼが開始複合体から伸長複合体に移行するにつれて、プロモーター結合部位が廃棄され、活性部位が拡張され、RNA転写物の出口トンネルが作出される、ループ構造からヘリックス構造へのコンフォメーション変化を受けるサブ領域（それぞれ、アミノ酸42～47及び257～262）を含む（例えば、図10を参照のこと）。Cヘリックス構造のサブ領域及び/またはCリンカーのリンカー領域に対する変異は、開始複合体と比較して伸長複合体の熱力学的安定性を高めることにより、伸長複合体に対するコンフォメーション平衡を推進し得る。理論に縛られることなく、Cヘリックス構造及び/またはCリンカーのリンカー領域などの選択領域の変異は、伸長中にポリメラーゼの出口トンネルが転写物と相互作用する方法を変化させることができ、転写エラー（例えば、ランオン転写物）を大幅に減少させると考えられている。したがって、本開示のバリエーションポリメラーゼは、Cヘリックス及び/またはCリンカーにおいて、伸長複合体に対するコンフォメーション平衡を推進するための（少なくとも1つの）変異を含む。

20

30

【0007】

本明細書で提供されるように、ポリメラーゼが開始から伸長に進むにつれてヘリックス構造に移行するループ構造を含むN末端ドメインの他の領域は、変異され得る（置換と呼ばれる、点変異）。そのようなループ-ヘリックス（*loop-to-helix*）領域の非限定的な例には、T7 RNAポリメラーゼ（例えば、配列番号1）のアミノ酸55～73、164～169、もしくは176～187に及ぶ領域、または前述の領域と相同である（例えば、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも98%同一である）他の単一サブユニットRNAポリメラーゼの領域（例えば、Cermakian, N. et al. *J Mol Evol* 45, 671 - 681 (1997) を参照のこと）を含む。他の単一サブユニットRNAポリメラーゼの非限定的な例には、T3 RNAポリメラーゼ、K11 RNAポリメラーゼ、及びSP6 RNAポリメラーゼが含まれる。

40

【0008】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼバリエーション（例えば、T7 RNAポリメラーゼバリエーション）は、高ヘリックス性向を有する残基（例えば、アラニン）か、また

50

は骨格柔軟性を伸長複合体の骨格柔軟性に特異的に一致させる残基に対する変異を含む。

【0009】

ポリメラーゼのC末端に少なくとも1つの追加のアミノ酸を含むRNAポリメラーゼバリエーションが本明細書でさらに提供される。例えば、T7 RNAポリメラーゼバリエーションは、ポリメラーゼのC末端に、追加のグリシン(G)などの少なくとも1つの追加のアミノ酸を含み得る。驚くべきことに、C末端「足(foot)」領域(例えば、野生型T7 RNAPの880~883位に「FAFA」(配列番号172)アミノ酸を含む領域)に追加のGを含むように修飾されたT7 RNAポリメラーゼを使用して生成されたRNA転写物の集団は、より少ない3'不均一性を示す。例えば、図23に示すように、C末端グリシン(すなわち、...FAFAG(配列番号329))を含むT7 RNAポリメラーゼバリエーションは、転写物の少なくとも85%が3'末端において均一であるRNA転写物集団を生成する。これまでの研究では、C末端の付加/挿入によりT7ポリメラーゼの機能が失われることが示されていることを考慮すると、このデータは特に予想外である(Gardner LP, et al. Biochemistry 36, 2908-2918 (1997)及びGross L, et al. Journal of Molecular Biology 228, 488-505 (1992))。

10

【0010】

本明細書に記載されているT7 RNAポリメラーゼバリエーション(例えば、T7 RNAポリメラーゼバリエーションG47AまたはG47A* C末端バリエーション)を使用したインビトロ転写アッセイにおいて、ssRNA(例えば、mRNA)をキャップ類似体(例えば、トリヌクレオチド)で共転写で(co-transcriptionally)キャッピングする方法(共転写キャッピング方法)もまた、本明細書で提供される。効率的な共転写キャッピングには、通常、5 ATPならびに等モル濃度のNTP及びトリヌクレオチドを用いて転写を開始する二本鎖DNA(dsDNA)鋳型が含まれる。これらの条件下で、T7 RNAポリメラーゼは、5 ATPを用いると開始活性が著しく低下する。予想外に、本明細書で提供されるデータは、GAGトリヌクレオチド(例えば、m⁷GpppA₂ oMe pG)の存在下において、例えば、5 ATPを用いたT7 RNAポリメラーゼの限定された開始活性は、5 ATPではなくトリヌクレオチドで開始が推進され、キャップされたRNAを共転写で生成する。驚くべきことに、いくつかの実施形態では、生成されたRNAの90%超が一本鎖完全長転写物を含み、生成されたRNAの少なくとも90%が機能性キャップを含み、生成されたRNAがIVT後に精製なしでも実質的なサイトカイン応答を示さない。

20

30

【0011】

したがって、本開示のいくつかの態様は、野生型RNAポリメラーゼと比較して、RNAポリメラーゼバリエーションが開始複合体から伸長複合体に移行するにつれてRNAポリメラーゼバリエーションの少なくとも1つのループ構造にヘリックス構造へのコンフォメーション変化を受けさせる少なくとも1つのアミノ酸置換を含む、RNAポリメラーゼバリエーションを提供する。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸置換は、開始複合体よりも伸長複合体においてフォールディング自由エネルギーの負の変化が大きいと推定される。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸置換は、野生型アミノ酸と比較して、高いヘリックス性向を有する。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼバリエーションは、C末端に(少なくとも1つの)追加のアミノ酸残基を含む。例えば、RNAポリメラーゼバリエーション(例えば、T7 RNAポリメラーゼバリエーション)は、C末端にグリシン(G)を含み得る。

40

【0012】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、T7 RNAポリメラーゼである。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、T3 RNAポリメラーゼである。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、SP6 RNAポリメラーゼである。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、K11 RNAポリメラーゼである。

【0013】

50

いくつかの実施形態では、少なくとも1つのループ構造が、Cヘリックス構造中にある。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのループ構造が、Cリンカー構造中にある。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのループ構造が、T7 RNAポリメラーゼのアミノ酸55～73、164～169、もしくは176～187、またはT7 RNAポリメラーゼに相同なRNAポリメラーゼ内の領域に存在する。

【0014】

いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸置換は、少なくとも1つの高ヘリックス性向アミノ酸置換である。例えば、少なくとも1つの高ヘリックス性向アミノ酸置換は、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び/またはグルタミン酸から選択され得る。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの高ヘリックス性向アミノ酸置換は、アラニンである。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの高ヘリックス性向アミノ酸置換は、イソロイシンである。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの高ヘリックス性向アミノ酸置換は、ロイシンである。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの高ヘリックス性向アミノ酸置換は、アルギニンである。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの高ヘリックス性向アミノ酸置換は、メチオニンである。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの高ヘリックス性向アミノ酸置換は、リジンである。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの高ヘリックス性向アミノ酸置換は、グルタミンである。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの高ヘリックス性向アミノ酸置換は、グルタミン酸である。

【0015】

いくつかの実施形態では、T7 RNAポリメラーゼは、E42（例えば、E42R）、S43（例えば、S43A）、Y44（例えば、Y44A）、E45（例えば、E45R/L）、M46（例えば、M46A）、G47（例えば、G47A）、A255（例えば、A255K/Q/Y/I）、R257（例えば、R257A）、A258（例えば、A258R/E/L）、G259（例えば、G259A）、A260（例えば、A260R/E/L）、L261（例えば、L261A）及びA262（例えば、A262R/E/L）から選択される少なくとも1つの位置に高ヘリックス性向アミノ酸の少なくとも1つのアミノ酸置換を含むように修飾される。T7 RNAポリメラーゼは、いくつかの実施形態では、（少なくとも1つの高ヘリックス性向アミノ酸置換に加えて）1つ以上の追加のアミノ酸置換をさらに含み得る。したがって、本開示は、本明細書で提供される1つ以上の高ヘリックス性向アミノ酸置換を有する既存の（例えば、現在入手できる及び/または市販の）T7 RNAポリメラーゼバリエーションのさらなる修飾を包含する。

【0016】

いくつかの実施形態では、T7 RNAポリメラーゼは、E42（例えば、E42R）、S43（例えば、S43A）、Y44（例えば、Y44A）、E45（例えば、E45R/L）、M46（例えば、M46A）及びG47（例えば、G47A）から選択される位置に高ヘリックス性向アミノ酸の少なくとも1つのアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号1のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸置換は、S43Aを含む。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸置換は、G47Aを含む。

【0017】

いくつかの実施形態では、T7 RNAポリメラーゼは、E42（例えば、E42R）、S43（例えば、S43A）、Y44（例えば、Y44A）、E45（例えば、E45R/L）、M46（例えば、M46A）及びG47（例えば、G47A）から選択される位置に高ヘリックス性向アミノ酸の少なくとも1つのアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号99、配列番号100、配列番号294、配列番号295、または配列番号296のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸置換は、S43Aを含む。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸置換は、G47Aを含む。

【0018】

いくつかの実施形態では、T7 RNAポリメラーゼは、A255（例えば、A255K/Q/Y/I）、R257（例えば、R257A）、A258（例えば、A258R/E/L）、G259（例えば、G259A）、A260（例えば、A260R/E/L）、L261（例えば、L261A）及びA262（例えば、A262R/E/L）から選択される位置に高ヘリックス性向アミノ酸の少なくとも1つのアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号1のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸置換は、R257Aを含む。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸置換は、G259Aを含む。

【0019】

いくつかの実施形態では、T7 RNAポリメラーゼは、A255（例えば、A255K/Q/Y/I）、R257（例えば、R257A）、A258（例えば、A258R/E/L）、G259（例えば、G259A）、A260（例えば、A260R/E/L）、L261（例えば、L261A）及びA262（例えば、A262R/E/L）から選択される位置に高ヘリックス性向アミノ酸の少なくとも1つのアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号99、配列番号100、配列番号294、配列番号295、または配列番号296のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸置換は、R257Aを含む。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸置換は、G259Aを含む。

【0020】

いくつかの態様では、位置G47、S43、R257、またはG259に高ヘリックス性向アミノ酸（例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び/またはグルタミン酸）のアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号1のアミノ酸配列を含むT7 RNAポリメラーゼもまた、本明細書で提供される。いくつかの態様では、位置G47、S43、R257、またはG259に高ヘリックス性向アミノ酸（例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び/またはグルタミン酸）のアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号99、配列番号100、配列番号294、配列番号295、または配列番号296のアミノ酸配列を含むT7 RNAポリメラーゼがさらに提供される。

【0021】

いくつかの実施形態では、本開示のT7 RNAポリメラーゼは、配列番号2、配列番号3、配列番号4、または配列番号5のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、本開示のT7 RNAポリメラーゼは、配列番号107もしくは108、配列番号109もしくは110、配列番号111もしくは112、または配列番号113もしくは114のアミノ酸配列を含む。

【0022】

いくつかの実施形態では、T7 RNAポリメラーゼは、少なくとも1つの追加のC末端アミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、T7 RNAポリメラーゼは、少なくとも2つの追加のC末端アミノ酸を含む。

【0023】

いくつかの実施形態では、少なくとも2つの追加のC末端アミノ酸は、同じ種類のアミノ酸（例えば、すべてGly、すべてAla）を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも2つの追加のC末端アミノ酸は、少なくとも2つの異なる種類のアミノ酸（例えば、GlyAla、AlaGly）を含む。

【0024】

いくつかの実施形態では、T7 RNAポリメラーゼは、少なくとも3つの追加のC末端アミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、少なくとも3つの追加のC末端アミノ酸は、少なくとも2つもしくは少なくとも3つの同じ種類または異なる種類のアミノ酸（例えば、GlyGlyGly、AlaAlaAla）を含む。

【0025】

いくつかの実施形態では、T7 RNAポリメラーゼは、1～10個（例えば、1、2

10

20

30

40

50

、3、4、5、6、7、8、9、または10個)の追加のC末端アミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、T7 RNAポリメラーゼは、1~5つの追加のC末端アミノ酸を含む。

【0026】

いくつかの実施形態では、T7 RNAポリメラーゼはF A F A X_n (配列番号171)モチーフを含むC末端を含み、Xは任意のアミノ酸であり、nはゼロより大きい任意の整数である。いくつかの実施形態では、Xはグリシン(G)である。いくつかの実施形態では、nは1、2、3、4、または5である。nが1より大きく、したがって、C末端モチーフは、例えばF A F X X、F A F A X X X (配列番号319)、F A F A X X X X (配列番号320)、またはF A F A X X X X X (配列番号321)である実施形態では、例えば、X'が同じアミノ酸であり得、または異なるアミノ酸であり得ると理解されるべきである。例えば、C末端モチーフは、F A F A G G (配列番号322)もしくはF A F A G G G (配列番号323)であってもよく、またはC末端モチーフは、F A F A G A (配列番号324)、F A F A G C (配列番号325)、F A F A G A A (配列番号326)、F A F A G A G (配列番号327)、F A F A G A C (配列番号328)などであり得る。他のC末端アミノ酸の組み合わせを使用し得る。

10

【0027】

いくつかの実施形態では、T7 RNAポリメラーゼは、F A F A G (配列番号329)モチーフを含むC末端を含む。

【0028】

いくつかの実施形態では、T7 RNAポリメラーゼは、X A F A X_nモチーフ、F X F A X_nモチーフ、F A X A X_nモチーフ、またはF A F X X_nモチーフを含み、各Xは任意のアミノ酸であり、nはゼロより大きい任意の整数である。したがって、本開示は、様々なC末端、F⁸⁸⁰A⁸⁸¹F⁸⁸²A⁸⁸³ (配列番号172)モチーフを含み、880位、881位、882位、または883位のうちの1つ以上のアミノ酸(例えば、野生型T7 RNAPと比較して、例えば、配列番号1)が、追加のC末端アミノ酸(X_n)の有無にかかわらず、少なくとも1つのアミノ酸置換を含むように修飾されている。

20

【0029】

いくつかの態様では、本開示は、対応する野生型RNAポリメラーゼと比較して少なくとも1つの追加のC末端アミノ酸を含む、RNAポリメラーゼを提供する。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、T7 RNAポリメラーゼ、T3 RNAポリメラーゼ、及びSP6 RNAポリメラーゼから選択される。

30

【0030】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、少なくとも1つの追加のアミノ酸置換をさらに含む。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、G47A、S43A、R257A、及びG259Aから選択される配列番号1のアミノ酸置換に対応するアミノ酸置換をさらに含む。

【0031】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、43±1(例えば、42、43、または44)位、47±1(例えば、46、47、または48)位、257±1(例えば、256位、257位、または258)位、及び/または259±1(例えば、258位、259位、または260)位にアミノ酸を含むように修飾された、配列番号1と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、または少なくとも99%同一のアミノ酸配列を含むT7 RNAポリメラーゼであり、任意選択により、アミノ酸置換はアラニン(A)である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、野生型T7 RNAポリメラーゼの43±1位、47±1位、257±1位、及び/または259±1位(配列または構造アライメントに基づく)に対応する位置にアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号6と少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも98%同一のアミノ酸配列を含むT3 RNAポリメラーゼであり、任意選択により、アミノ酸置換はアラニン(A)である。いくつかの実施形態では、野生型T7 RNAポリメラーゼの

40

50

43 ± 1 位、47 ± 1 位、257 ± 1 位、及び/または259 ± 1 位（配列または構造アライメントに基づく）に対応する位置にアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号7と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、または少なくとも99%同一のアミノ酸配列を含むSP6 RNAポリメラーゼであり、任意選択により、アミノ酸置換はアラニン（A）である。

【0032】

本開示のいくつかの態様は、43位、47位、257位、及び/または259位にアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号1と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、または少なくとも99%同一のアミノ酸配列を含むT7 RNAポリメラーゼを提供し、任意選択により、アミノ酸置換はアラニン（A）である。

10

【0033】

本開示の他の態様は、野生型T7 RNAポリメラーゼの43位、47位、257位、及び/または259位に対応する位置にアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号6と少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも98%同一のアミノ酸配列を含むT3 RNAポリメラーゼを提供し、任意選択により、アミノ酸置換はアラニン（A）である。したがって、いくつかの実施形態では、T3 RNAポリメラーゼは、44位、48位、258位、及び/または260位にアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号6と少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも98%同一のアミノ酸配列を含み、任意選択により、アミノ酸置換はアラニン（A）である。

【0034】

20

本開示のさらに他の態様は、野生型T7 RNAポリメラーゼの43位、47位、257位、及び/または259位に対応する位置にアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号7と少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも98%同一のアミノ酸配列を含むSP6 RNAポリメラーゼを提供し、任意選択により、アミノ酸置換はアラニン（A）である。したがって、いくつかの実施形態では、SP6 TNAポリメラーゼは、15位、19位、230位、及び/または232位にアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号7と少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも98%同一のアミノ酸配列を含み、任意選択により、アミノ酸置換はアラニン（A）である。

【0035】

本開示はまた、RNA転写物の生成をもたらす条件下で（例えばIVT条件下で）、DNA鋳型を本明細書に記載のRNAポリメラーゼバリエーションと接触させることを含む、RNAの生成方法を提供する。

30

【0036】

本開示は、ヌクレオシド三リン酸（NTP）及び緩衝液の存在下において、RNA転写物の生成をもたらす条件下で、DNA鋳型を本明細書で提供されるRNAポリメラーゼバリエーションと接触させることを含む、IVT反応を行う方法をさらに提供する。

【0037】

いくつかの実施形態では、生成されたRNA転写物は、任意選択により未精製形態で細胞に送達されたときに、同じIVT条件下で野生型RNAポリメラーゼを使用して生成されたRNAと比較して、少なくとも50%（例えば、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも95%、または少なくとも98%）低いサイトカイン応答を刺激する。

40

【0038】

いくつかの実施形態では、IVTにより生成されたdsRNA転写物の濃度は、野生型ポリメラーゼを使用して生成されたdsRNA転写物と比較して、少なくとも50%（例えば、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも95%、または少なくとも98%）低い。

【0039】

いくつかの実施形態では、生成されたRNA転写物の20%未満（例えば、15%未満、10%未満、5%未満）が3'不均一性を示す。

50

【 0 0 4 0 】

いくつかの実施形態では、生成された R N A 転写物の 5 0 % 未満（例えば、4 0 % 未満、3 0 % 未満、2 0 % 未満、1 0 % 未満）が切断型 R N A 転写物である。

【 0 0 4 1 】

いくつかの実施形態では、生成された R N A 転写物の 5 0 % 未満（例えば、4 0 % 未満、3 0 % 未満、2 0 % 未満、1 0 % 未満）がランオン R N A 転写物である。

【 0 0 4 2 】

いくつかの態様では、生成された全長 R N A 転写物の量が、D N A 鋳型の量よりも少なくとも 1 5 倍大きい。

【 0 0 4 3 】

いくつかの実施形態では、切断型 R N A 転写物：生成された完全長 R N A 転写物の比率が、1：1 未満である。

【 0 0 4 4 】

いくつかの実施形態では、生成された R N A 転写物は、D N A 鋳型と比較して 1 0 0 ヌクレオチドあたり 1 未満の変異を有する。

【 0 0 4 5 】

本開示は、いくつかの態様では、R N A ポリメラーゼバリエーションをコードする核酸を提供し、いくつかの実施形態では、該核酸を含むベクター（例えばプラスミド）及び/または宿主細胞（例えば哺乳動物細胞、例えばヒト細胞）を提供する。

【 0 0 4 6 】

本開示の方法により生成された R N A 転写物も提供される。いくつかの実施形態では、R N A 転写物（例えば、m R N A）は、脂質ナノ粒子中に製剤化される。脂質ナノ粒子は、例えば、2 0 ~ 6 0 % のイオン化可能なアミノ脂質、5 ~ 2 5 % の非カチオン性脂質、2 5 ~ 5 5 % のステロール、及び 0 . 5 ~ 1 5 % の P E G 修飾脂質のモル比を含み得る。例えば、参照により本明細書に組み込まれる、2 0 1 7 年 4 月 2 7 日に公開された W O 2 0 1 7 / 0 7 0 6 2 4 を参照のこと。

【 0 0 4 7 】

R N A ポリメラーゼバリエーションを含む他の組成物及びキットが本明細書で包含される。

【 0 0 4 8 】

リボ核酸（R N A）合成のための共転写キャッピング方法であって、R N A 転写物を生成するためのインビトロ転写反応条件下で、ポリヌクレオチド鋳型を T 7 R N A ポリメラーゼバリエーション、ヌクレオシド三リン酸、及びキャップ類似体と反応させることを含む方法も本明細書で提供される。

【 0 0 4 9 】

いくつかの実施形態では、生成された R N A 転写物の 8 0 % 超、8 5 % 超、または 9 0 % 超が機能性キャップを含む。いくつかの実施形態では、生成された R N A 転写物の 9 5 % 超が機能性キャップを含む。

【 0 0 5 0 】

いくつかの実施形態では、ヌクレオシド三リン酸は、非修飾もしくは修飾 A T P、修飾もしくは非修飾 U T P、修飾もしくは非修飾 G T P、及び/または修飾もしくは非修飾 C T P を含む。

【 0 0 5 1 】

いくつかの実施形態では、T 7 ポリメラーゼバリエーションは、E 4 2、S 4 3、Y 4 4、E 4 5、M 4 6、G 4 7、A 2 5 5、R 2 5 7、及び G 2 5 9 から選択される位置に高性向アミノ酸の少なくとも 1 つのアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号 1 のアミノ酸配列（または配列番号 1 と 9 0 % ~ 9 9 %、例えば少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、もしくは少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列）を含む。いくつかの実施形態では、T 7 ポリメラーゼバリエーションは、G 4 7 A のアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号 1 のアミノ酸配列（または配列番号 1 と 9 0 % ~ 9 9 %、例えば少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5

10

20

30

40

50

%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列)を含む。いくつかの実施形態では、T7ポリメラーゼバリエーションは、S43Aのアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号1のアミノ酸配列(または配列番号1と90%~99%、例えば少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列)を含む。

【0052】

いくつかの実施形態では、T7ポリメラーゼバリエーションは、E42、S43、Y44、E45、M46、G47、A255、R257、及びG259から選択される位置に高性向アミノ酸の少なくとも99つのアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号99のアミノ酸配列(または配列番号99と90%~99%、例えば少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列)を含む。いくつかの実施形態では、T7ポリメラーゼバリエーションは、G47Aのアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号99のアミノ酸配列(または配列番号99と90%~99%、例えば少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列)を含む。いくつかの実施形態では、T7ポリメラーゼバリエーションは、S43Aのアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号99のアミノ酸配列(または配列番号99と90%~99%、例えば少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列)を含む。

【0053】

いくつかの実施形態では、T7ポリメラーゼバリエーションは、E42、S43、Y44、E45、M46、G47、A255、R257、及びG259から選択される位置に高性向アミノ酸の少なくとも100つのアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号100のアミノ酸配列(または配列番号100と90%~99%、例えば少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列)を含む。いくつかの実施形態では、T7ポリメラーゼバリエーションは、G47Aのアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号100のアミノ酸配列(または配列番号100と90%~99%、例えば少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列)を含む。いくつかの実施形態では、T7ポリメラーゼバリエーションは、S43Aのアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号100のアミノ酸配列(または配列番号100と90%~99%、例えば少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列)を含む。

【0054】

いくつかの実施形態では、ヌクレオシド三リン酸及びキャップ類似体は、反応において等モル濃度で存在する。いくつかの実施形態では、反応におけるキャップ類似体とヌクレオシド三リン酸とのモル比は、1:1より大きい。いくつかの実施形態では、反応におけるキャップ類似体とヌクレオシド三リン酸とのモル比は、1:1未満である。

【0055】

いくつかの実施形態では、キャップ類似体は、ジヌクレオチドキャップ、トリヌクレオチドキャップ、またはテトラヌクレオチドキャップである。いくつかの実施形態では、キャップ類似体は、トリヌクレオチドキャップである。

【0056】

いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、以下の配列: GAA、GAC、GAG、GAU、GCA、GCC、GCG、GCU、GGA、GGC、GGG、GGU、GUA、GUC、GUG、及びGUUから選択される配列を含む。

【0057】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、以下の配列： m^7GpppA 、 $m^7GpppApA$ 、 $m^7GpppApC$ 、 $m^7GpppApG$ 、 $m^7GpppApU$ 、 $m^7GpppCpA$ 、 $m^7GpppCpC$ 、 $m^7GpppCpG$ 、 $m^7GpppCpU$ 、 $m^7GpppGpA$ 、 $m^7GpppGpC$ 、 $m^7GpppGpG$ 、 $m^7GpppGpU$ 、 $m^7GpppUpA$ 、 $m^7GpppUpC$ 、 $m^7GpppUpG$ 、及び $m^7GpppUpU$ から選択される配列を含む。

【0058】

いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、以下の配列： m^7G_3 $omepppApA$ 、 m^7G_3 $omepppApC$ 、 m^7G_3 $omepppApG$ 、 m^7G_3 $omepppApU$ 、 m^7G_3 $omepppCpA$ 、 m^7G_3 $omepppCpC$ 、 m^7G_3 $omepppCpG$ 、 m^7G_3 $omepppCpU$ 、 m^7G_3 $omepppGpA$ 、 m^7G_3 $omepppGpC$ 、 m^7G_3 $omepppGpG$ 、 m^7G_3 $omepppGpU$ 、 m^7G_3 $omepppUpA$ 、 m^7G_3 $omepppUpC$ 、 m^7G_3 $omepppUpG$ 、及び m^7G_3 $omepppUpU$ から選択される配列を含む。

【0059】

いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、以下の配列： m^7G_3 $omepppA_2$ $omepA$ 、 m^7G_3 $omepppA_2$ $omepC$ 、 m^7G_3 $omepppA_2$ $omepG$ 、 m^7G_3 $omepppA_2$ $omepU$ 、 m^7G_3 $omepppC_2$ $omepA$ 、 m^7G_3 $omepppC_2$ $omepC$ 、 m^7G_3 $omepppC_2$ $omepG$ 、 m^7G_3 $omepppC_2$ $omepU$ 、 m^7G_3 $omepppG_2$ $omepA$ 、 m^7G_3 $omepppG_2$ $omepC$ 、 m^7G_3 $omepppG_2$ $omepG$ 、 m^7G_3 $omepppG_2$ $omepU$ 、 m^7G_3 $omepppU_2$ $omepA$ 、 m^7G_3 $omepppU_2$ $omepC$ 、 m^7G_3 $omepppU_2$ $omepG$ 、及び m^7G_3 $omepppU_2$ $omepU$ から選択される配列を含む。

【0060】

いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、以下の配列： m^7GpppA_2 $omepA$ 、 m^7GpppA_2 $omepC$ 、 m^7GpppA_2 $omepG$ 、 m^7GpppA_2 $omepU$ 、 m^7GpppC_2 $omepA$ 、 m^7GpppC_2 $omepC$ 、 m^7GpppC_2 $omepG$ 、 m^7GpppC_2 $omepU$ 、 m^7GpppG_2 $omepA$ 、 m^7GpppG_2 $omepC$ 、 m^7GpppG_2 $omepG$ 、 m^7GpppG_2 $omepU$ 、 m^7GpppU_2 $omepA$ 、 m^7GpppU_2 $omepC$ 、 m^7GpppU_2 $omepG$ 、及び m^7GpppU_2 $omepU$ から選択される配列を含む。

【0061】

いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、以下の配列： GAG 、 GCG 、 GUG 、及び GGG から選択される配列を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、配列 GAG を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 m^7GpppA_2 $omepG$ を含む。

【0062】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド鋳型は、鋳型位置 + 1 に 2' - デオキシチミジン残基を含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド鋳型は、鋳型位置 + 1 に 2' - デオキシシチジン残基を含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド鋳型は、鋳型位置 + 1 に 2' - デオキシアデノシン残基を含む。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド鋳型は、鋳型位置 + 1 に 2' - デオキシグアノシン残基を含む。

【0063】

RNA合成のための共転写キャッピング方法であって、RNA転写物を生成するためのインビトロ転写反応条件下で、ポリヌクレオチド鋳型を (a) T7 RNAポリメラーゼバリエーションであって、野生型RNAポリメラーゼと比較して、該RNAポリメラーゼバリエーションが開始複合体から伸長複合体に移行するにつれてRNAポリメラーゼバリエーションの少なくとも1つのループ構造にヘリックス構造へのコンフォメーション変化を受けさせる少なくとも1つのアミノ酸置換を含む、該T7 RNAポリメラーゼバリエーション、(b)

ヌクレオシド三リン酸、及び(c)配列GpppA₂omepGを含むトリヌクレオチドキャップと反応させることを含み、ポリヌクレオチド鑄型は、鑄型位置+1に2'-デオキシチミジン残基を含む、該方法も本明細書で提供される。

【0064】

いくつかの実施形態では、生成されたRNA転写物は、任意選択により未精製の形態で細胞に送達されたときに、検出可能なサイトカイン応答を刺激しない。

【0065】

インビトロ転写(IVT)RNA及び薬学的に許容される賦形剤を含む組成物であって、IVT後の精製なしでサイトカイン誘導RNA混入物を実質的に含まない組成物が、本明細書でさらに提供される。

【0066】

組成物は、いくつかの実施形態では、IVT RNA及び薬学的に許容される賦形剤を含み、該組成物は5%未満のキャップされていないRNA種を有する。

【0067】

いくつかの実施形態では、IVT RNAの80%超、85%超、または90%超が機能性キャップを含む。いくつかの実施形態では、IVT RNAの95%超が機能性キャップを含む。

【0068】

いくつかの実施形態では、IVT RNAは化学修飾されていない。他の実施形態では、IVT RNAは化学的に修飾されている。

【0069】

いくつかの実施形態では、IVT RNAの95%超が一本鎖完全長転写物を含む。

【0070】

いくつかの実施形態では、RNAは、RNA転写物を生成するためのインビトロ転写反応条件下で、ポリヌクレオチド鑄型を(a)T7 RNAポリメラーゼバリエーションであって、野生型RNAポリメラーゼと比較して、該RNAポリメラーゼバリエーションが開始複合体から伸長複合体に移行するにつれてRNAポリメラーゼバリエーションの少なくとも1つのループ構造にヘリックス構造へのコンフォメーション変化を受けさせる少なくとも1つのアミノ酸置換を含む、該T7 RNAポリメラーゼバリエーション、(b)ヌクレオシド三リン酸、及び(c)配列GpppA₂omepGを含むトリヌクレオチドキャップと反応させることを含むプロセスによって生成され、ポリヌクレオチド鑄型が、鑄型位置+1に2'-デオキシチミジン残基を含む。

【0071】

いくつかの態様では、本開示は、配列番号294~313のアミノ酸配列を含むT7 RNAPバリエーションを提供し、xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1~5(例えば、1、2、3、4、または5)である。

【0072】

いくつかの態様では、本開示は、ヌクレオシド三リン酸及び緩衝液の存在下において、RNA転写物の生成をもたらす条件下で、DNA鑄型を本開示のRNAポリメラーゼバリエーションと接触させることを含み、IVT反応を行う方法を提供する。いくつかの実施形態では、生成されたRNAは、任意選択により未精製形態で細胞に送達されたときに、野生型を使用して生成されたdsRNA転写物と比較して少なくとも50%低いサイトカイン応答を刺激する。いくつかの実施形態では、IVT反応により生成されたRNA転写物の30%未満が3'不均一性を示す。

【図面の簡単な説明】

【0073】

【図1】野生型(WT)T7ポリメラーゼまたはT7ポリメラーゼバリエーションG47A*(C末端Gを有する)及びS43A*(C末端Gを有する)を使用して生成されたヒトエリスロポエチン(hEPO)mRNAの260nmでのHPLCクロマトグラムを示す。

【図2】左のパネルは、逆相(RP)精製ありまたは精製なしのWT T7 RNAポリメ

10

20

30

40

50

ラーゼまたは T7 RNAポリメラーゼバリエーション S43A* (C末端 Gを有する) もしくは G47A* (C末端 Gを有する) の1つを使用して生成された化学修飾されていない hEPO RNA転写物でトランスフェクトされた BJ線維芽細胞における IFN 応答を示すグラフを示す。右パネルは、トランスフェクトされた細胞における hEPO 発現を示すグラフを示す。

【図3】上パネルは、逆相 (RP) 精製ありまたは精製なしの WT T7 RNAポリメラーゼまたは T7 RNAポリメラーゼバリエーション S43A* (C末端 Gを有する) もしくは G47A* (C末端 Gを有する) の1つを使用して生成された化学修飾された hEPO RNA転写物 (N1 - メチルシュドウラシル (m^1) 修飾) でトランスフェクトされた BJ線維芽細胞における IFN 応答を示すグラフを示す。下パネルは、逆相 (RP) 精製ありまたは精製なしの WT T7 RNAポリメラーゼまたは T7 RNAポリメラーゼバリエーション S43A* (C末端 Gを有する) もしくは G47A* (C末端 Gを有する) の1つを使用して生成された化学修飾された hEPO RNA転写物 (5 - メトキシ - ウリジン (m^5U) 修飾) でトランスフェクトされた細胞における IFN 応答を示すグラフを示す。

10

【図4】上パネル及び下パネルは、図3に使用した hEPO RNA転写物でトランスフェクトされた細胞における hEPO 発現を示すグラフを示す。N1 - メチルシュドウラシル (m^1) 修飾 hEPO 発現は上グラフに示され、5 - メトキシ - ウリジン (m^5U) 修飾 hEPO 発現は下グラフに示されている。

【図5】WT T7 RNAポリメラーゼまたは T7 RNAポリメラーゼバリエーション S43A* (C末端 Gを有する) もしくは G47A* (C末端 Gを有する) を使用して生成された化学修飾された hEPO RNA転写物でトランスフェクトされた単球由来マクロファージにおける IP10 応答を示すグラフを示す。

20

【図6】上パネルは、WT T7 RNAポリメラーゼまたは T7 RNAポリメラーゼバリエーション S43A* (C末端 Gを有する) もしくは G47A* (C末端 Gを有する) を使用して生成された化学修飾された hEPO RNA転写物 (N1 - メチルシュドウラシル (m^1)) でトランスフェクトされた単球由来マクロファージにおける IP10 応答を示すグラフを示す。下パネルは、WT T7 RNAポリメラーゼまたは T7 RNAポリメラーゼバリエーション S43A* (C末端 Gを有する) もしくは G47A* (C末端 Gを有する) を使用して生成された、化学修飾された hEPO RNA転写物 (5 - メトキシ - ウリジン (m^5U)) でトランスフェクトされた単球由来マクロファージにおける IP10 応答を示すグラフを示す。

30

【図7】WT T7 RNAポリメラーゼまたは T7 RNAポリメラーゼバリエーション S43A* (C末端 Gを有する) もしくは G47A* (C末端 Gを有する) を使用して IVT 反応により生成された $1\mu g$ の化学的に修飾されていない hEPO RNA転写物 (左) または $5\mu g$ の化学的に修飾されていない hEPO RNA転写物を使用して dsRNA ELISA を用いて検出された混入した二本鎖 (ds) RNA の濃度を示すグラフを示す。

【図8】化学修飾された hEPO RNA転写物 (N1 - メチルシュドウラシル (m^1) 修飾、上; 5 - メトキシ - ウリジン (m^5U) 修飾、下) を用いて dsRNA ELISA を使用して検出された混入 dsRNA の濃度を示すグラフを示す。

40

【図9A】WT T7 RNAポリメラーゼまたは T7 RNAポリメラーゼバリエーション S43A* (C末端 Gを有する) もしくは G47A* (C末端 Gを有する) を使用して生成された hEPO RNA転写物の RNase T1 テール消化から得られた質量クロマトグラム結果を示す。LCMS 分析の結果を示す。

【図9B】WT T7 RNAポリメラーゼまたは T7 RNAポリメラーゼバリエーション S43A* (C末端 Gを有する) もしくは G47A* (C末端 Gを有する) を使用して生成された hEPO RNA転写物の RNase T1 テール消化から得られた質量クロマトグラム結果を示す。図9Aの3'末端集団分布の定量化を示す。

【図10】T7 RNAポリメラーゼが開始複合体から伸長複合体に移行するにつれて、Cヘリックス及びCリンカーループ構造がコンフォメーションをCヘリックス及びCルー

50

プヘリックスへと変化する概略図を示す。PDB結晶構造1MSW及び1QLNから生成され、Molecular Operating Environment [Chemical Computing Group ULC]で描写した。

【図11A】リガーゼの存在下でDNAスプリント(DNA splint)を使用して、IVTによって生成された「レフトマー(leftmer)」RNA転写物を「ライトマー(rightmer)」蛍光標識ポリAシグナルにライゲーションする概略図を示す。ライゲーション部位における単一ヌクレオチドのオーバーハング(overhang)でさえ、ライゲーションを効率的にしない。

【図11B】WT T7 RNAポリメラーゼ及びT7 RNAポリメラーゼバリエーションG47A*(C末端Gを有する)またはS43A*(C末端Gを有する)を用いて生成されたライトマーのライゲーション効率を示すPAGE-Dゲルである。

10

【図12】32P-GTPを使用してアポタイプ転写物を標識したまたは32P-CTPを使用して逆相補体を標識した放射性ゲルを示す。IVTは、短いモデル転写物を使用して行った。このデータは、T7 RNAポリメラーゼバリエーションS43A*(C末端Gを有する)及びG47A*(C末端Gを有する)が逆補体形成を減少させることを実証している。

【図13】インビトロ転写によりキャップされたmRNAを生成する従来の方法の概略図である。

【図14A】野生型T7 RNAポリメラーゼまたは本開示のT7 RNAポリメラーゼバリエーション(G47A*)のいずれかを使用した共転写キャッピングアッセイの結果を示すグラフである。ジヌクレオチドキャップ(ワクシニアキャップ1)またはトリヌクレオチドキャップ(GAGまたはGmAG)の例を示す。共転写キャッピングアッセイをトリヌクレオチドキャッピングアッセイで使用した。

20

【図14B】野生型T7 RNAポリメラーゼまたは本開示のT7 RNAポリメラーゼバリエーション(G47A*)のいずれかを使用した共転写キャッピングアッセイの結果を示すグラフである。共転写キャッピングアッセイのmRNA収量を示す。

【図14C】野生型T7 RNAポリメラーゼまたは本開示のT7 RNAポリメラーゼバリエーション(G47A*)のいずれかを使用した共転写キャッピングアッセイの結果を示すグラフである。共転写キャッピングアッセイで生成されたmRNAが高い完全性であることを示す。

30

【図14D】野生型T7 RNAポリメラーゼまたは本開示のT7 RNAポリメラーゼバリエーション(G47A*)のいずれかを使用した共転写キャッピングアッセイの結果を示すグラフである。WT T7 RNAポリメラーゼによって生成されたキャップされたmRNAが、BJ線維芽細胞においてサイトカイン生成を誘導したが、T7 RNAポリメラーゼバリエーションG47A*(C末端Gを有する)によって生成されたキャップされたmRNAは、驚くべきことに、サイトカイン生成を誘導しなかったことを示す。

【図14E】野生型T7 RNAポリメラーゼまたは本開示のT7 RNAポリメラーゼバリエーション(G47A*)のいずれかを使用した共転写キャッピングアッセイの結果を示すグラフである。WT T7 RNAポリメラーゼによって生成されたキャップされたmRNAは、BJ線維芽細胞においてコードされたタンパク質(hEPO)を発現しなかったが、T7 RNAポリメラーゼバリエーションG47A*(C末端Gを有する)によって生成されたキャップされたmRNAは、対照に匹敵するhEPO発現レベルをもたらした。対照は、WT T7 RNAポリメラーゼによって生成され、かつワクシニアキャップ1でキャップされたmRNAである。

40

【図15】共転写キャッピングアッセイで生成されたmRNAのLC質量分析の結果を示す。結果は、予想外にも、T7 RNAポリメラーゼバリエーションG47A*(C末端Gを有する)がWT T7 RNAポリメラーゼよりも均質な(cleaner)mRNAを生成したことを示している。トリヌクレオチドが組み込まれる比率は、両方の酵素で同等のようであった。

【図16A】共転写キャッピングアッセイにおいて生成されかつGAGトリヌクレオチド

50

でキャップされたmRNAまたはワクシニアキャップ1を使用した標準キャッピングアッセイにおいてキャップされたmRNAのサイトカイン応答を比較するグラフである。

【図16B】共転写キャッピングアッセイにおいて生成されかつGAGトリヌクレオチドでキャップされたmRNAまたはワクシニアキャップ1を使用した標準キャッピングアッセイにおいてキャップされたmRNAの発現を比較するグラフである。

【図17】T7 RNAポリメラーゼバリエーションG47A*及びトリヌクレオチドキャップm⁷GpppA₂omepGを使用した本明細書に記載の共転写キャッピングアッセイを示す概略図である。

【図18A】5' ATPまたは5' GTPで始まるmRNAのキャッピング効率の比較を示す液体クロマトグラフィー質量分析(LCMS)結果である。無傷のmRNAの分析を示す。

10

【図18B】5' ATPまたは5' GTPで始まるmRNAのキャッピング効率の比較を示す液体クロマトグラフィー質量分析(LCMS)結果である。RNase Hによって切断型mRNAの5'末端の分析を示す。

【図19A】3つのモデル構築物(hEPO、ルシフェラーゼ、及びeGFP)のPCR断片鋳型から生成された1-メチルシュードウリジンで化学修飾されたmRNAの分析を示すグラフである。RNase T1フィンガープリンティングアッセイによって分析したところ、mRNAが同じ配列を有することを示す。

【図19B】3つのモデル構築物(hEPO、ルシフェラーゼ、及びeGFP)のPCR断片鋳型から生成された1-メチルシュードウリジンで化学修飾されたmRNAの分析を示すグラフである。mRNAが高度の完全性を有することを示す。

20

【図19C】3つのモデル構築物(hEPO、ルシフェラーゼ、及びeGFP)のPCR断片鋳型から生成された1-メチルシュードウリジンで化学修飾されたmRNAの分析を示すグラフである。mRNAがBJ線維芽細胞においてサイトカイン応答を誘導しなかったことを示す。

【図20A】3つのモデル構築物(hEPO、Luc、及びeGFP)のプラスミド鋳型から生成された、1-メチルシュードウリジンで化学的に修飾されたmRNAの分析を示すグラフである。hEPOプラスミドを鋳型として使用した共転写キャッピングアッセイにおけるNTP消費が示されている。

【図20B】3つのモデル構築物(hEPO、Luc、及びeGFP)のプラスミド鋳型から生成された、1-メチルシュードウリジンで化学的に修飾されたmRNAの分析を示すグラフである。eGFPプラスミドを鋳型として使用した共転写キャッピングアッセイにおけるNTP消費が示されている。

30

【図20C】3つのモデル構築物(hEPO、Luc、及びeGFP)のプラスミド鋳型から生成された、1-メチルシュードウリジンで化学的に修飾されたmRNAの分析を示すグラフである。mRNA産物が高い完全性を有していることを示す。

【図20D】3つのモデル構築物(hEPO、Luc、及びeGFP)のプラスミド鋳型から生成された、1-メチルシュードウリジンで化学的に修飾されたmRNAの分析を示すグラフである。mRNA産物のサイトカイン応答を示す。

【図20E】3つのモデル構築物(hEPO、Luc、及びeGFP)のプラスミド鋳型から生成された、1-メチルシュードウリジンで化学的に修飾されたmRNAの分析を示すグラフである。BJ線維芽細胞におけるhEPOをコードするmRNAの発現を示す。

40

【図20F】3つのモデル構築物(hEPO、Luc、及びeGFP)のプラスミド鋳型から生成された、1-メチルシュードウリジンで化学的に修飾されたmRNAの分析を示すグラフである。BJ線維芽細胞におけるルシフェラーゼ(Luc)をコードするmRNAの発現を示す。

【図20G】3つのモデル構築物(hEPO、Luc、及びeGFP)のプラスミド鋳型から生成された、1-メチルシュードウリジンで化学的に修飾されたmRNAの分析を示すグラフである。BJ線維芽細胞におけるeGFPをコードするmRNAの発現を示す。

【図21】C末端グリシン(G)を含むT7 RNAPバリエーションG47A*を使用して

50

生成された mRNA 転写物の 85% (例えば、約 90%) 超が 3' 末端にヒドロキシル基を有することを示すグラフである。

【図 2 2】WT または G47A T7 RNAP バリエーション (そのうちのいくつかは C 末端に追加のアミノ酸 (例えば、1 つもしくは 2 つのグリシン、または 2 つのアラニン) を含む I V T 反応からの非修飾 h E P O mRNA 生成を示す。

【図 2 3】示されている WT、G47A、または S43A / G47A T7 RNAP バリエーション (そのうちのいくつかは C 末端に追加のアミノ酸 (例えば、1 つもしくは 2 つのグリシン、または 2 つのアラニン) を有する) を含む I V T 反応からの 1 - メチル - シュードウリジン修飾 h E P O mRNA 生成を示す。

【図 2 4 A】示されている WT、G47A、または S43A / G47A T7 RNAP バリエーション (そのうちのいくつかは C 末端に追加のアミノ酸 (例えば、1 つもしくは 2 つのグリシン、または 2 つのアラニン) を有する) を使用して生成された h E P O mRNA 転写物の RNA s e T1 テール消化物の結果を示す。等モル濃度の NTP を有する WT T7 RNAP (WT E Q)、過剰な GTP 及び ATP を含む WT T7 RNAP (WT アルファ)、または追加の C 末端グリシンを有し、等モル濃度の NTP を有する G47A * T7 RNAP (G47A * E Q) を使用した I V T 反応から生成された h E P O mRNA の LCMS 分析の結果を示す。

【図 2 4 B】示されている WT、G47A、または S43A / G47A T7 RNAP バリエーション (そのうちのいくつかは C 末端に追加のアミノ酸 (例えば、1 つもしくは 2 つのグリシン、または 2 つのアラニン) を有する) を使用して生成された h E P O mRNA 転写物の RNA s e T1 テール消化物の結果を示す。図 2 4 A の 3' 末端集団分布の定量化を示す。

【図 2 4 C】示されている WT、G47A、または S43A / G47A T7 RNAP バリエーション (そのうちのいくつかは C 末端に追加のアミノ酸 (例えば、1 つもしくは 2 つのグリシン、または 2 つのアラニン) を有する) を使用して生成された h E P O mRNA 転写物の RNA s e T1 テール消化物の結果を示す。非修飾 mRNA を使用した I V T 反応において生成された均質な 3' 末端集団のパーセンテージを示す。

【図 2 4 D】示されている WT、G47A、または S43A / G47A T7 RNAP バリエーション (そのうちのいくつかは C 末端に追加のアミノ酸 (例えば、1 つもしくは 2 つのグリシン、または 2 つのアラニン) を有する) を使用して生成された h E P O mRNA 転写物の RNA s e T1 テール消化物の結果を示す。1 - メチル - シュードウリジン修飾 mRNA を使用した I V T 反応において生成された均質な 3' 末端集団のパーセンテージを示す。

【図 2 5 A】示されている WT、G47A、または S43A / G47A T7 RNAP バリエーション (そのうちのいくつかは C 末端に置換を有する) を含む I V T 反応から生成された非修飾 mRNA に対する BJ 線維芽細胞のサイトカイン応答を比較するグラフを示す。

【図 2 5 B】示されている WT、G47A、または S43A / G47A T7 RNAP バリエーション (そのうちのいくつかは C 末端に置換を有する) を含む I V T 反応から生成された 1 - メチル - シュードウリジン修飾 mRNA に対する BJ 線維芽細胞のサイトカイン応答を比較するグラフを示す。

【図 2 6 A】示されている WT または G47A T7 RNAP バリエーション (そのうちのいくつかは C 末端に追加のアミノ酸を有する) を含む I V T 反応から生成された放射標識 mRNA を示す。I V T mRNA 産物は、ポリアクリルアミド変性ゲル上でサイズ別に分離される。非修飾 mRNA または 1 - メチル - シュードウリジン修飾 mRNA のいずれかが ^{32}P - CTP で放射標識されている。

【図 2 6 B】示されている WT または G47A T7 RNAP バリエーション (そのうちのいくつかは C 末端に追加のアミノ酸を有する) を含む I V T 反応から生成された放射標識 mRNA を示す。I V T mRNA 産物は、ポリアクリルアミド変性ゲル上でサイズ別に分離される。逆補体 mRNA は ^{32}P - CTP で放射標識されている。

【図 2 7 A】ホタルルシフェラーゼ (f f L u c) をコードするトリヌクレオチドキャッ

10

20

30

40

50

ブされた G 4 7 A * m R N A が、1 日目に、m R N A 対照と同様のインビボでの I P - 1 0 血清サイトカインレベルを誘導することを実証するデータのグラフを示す。

【図 2 7 B】ホタルルシフェラーゼ (f f L u c) をコードするトリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * m R N A が、2 9 日目に、m R N A 対照と同様のインビボでの I P - 1 0 血清サイトカインレベルを誘導することを実証するデータのグラフを示す。

【図 2 8 A】f f L u c をコードするトリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * m R N A が、B J 線維芽細胞 (B J F) において、m R N A 対照と同様のインビトロでのベースラインサイトカインレベルを誘導することを示すデータのグラフを示す。

【図 2 8 B】f f L u c をコードするトリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * m R N A が、単球由来マクロファージ (M D M) において、m R N A 対照と同様のインビトロでのベースラインサイトカインレベルを誘導することを示すデータのグラフを示す。

【図 2 9】f f L u c をコードするトリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * m R N A が、週 6 回の投与後に、インビボで高発現を維持することを実証するデータのグラフを示す。

【図 3 0】f f L u c をコードするトリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * m R N A が、週 6 回の投与後に、低い抗 P E G I g M レベルを誘導することを実証するデータのグラフを示す。

【図 3 1】f f L u c をコードするトリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * m R N A が、m R N A 対照と同様の低い B 細胞活性化を示すことを実証するデータのグラフを示す。

【図 3 2 A】ヒトエリスロポエチン (h E P O) をコードするトリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * m R N A が、1 日目に、m R N A 対照と同様のインビボでの I P - 1 0 血清サイトカインレベルを誘導することを示すデータのグラフを示す。

【図 3 2 B】ヒトエリスロポエチン (h E P O) をコードするトリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * m R N A が、2 2 日目に、m R N A 対照と同様のインビボでの I P - 1 0 血清サイトカインレベルを誘導することを示すデータのグラフを示す。

【図 3 3 A】h E P O をコードするトリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * m R N A が、B J 線維芽細胞 (B J F) において、m R N A 対照と同様のインビトロでのベースラインサイトカインレベルを誘導することを示すデータのグラフを示す。

【図 3 3 B】は、h E P O をコードするトリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * m R N A が、単球由来マクロファージ (M D M) において、m R N A 対照と同様のインビトロでのベースラインサイトカインレベルを誘導することを示すデータのグラフを示す。

【図 3 4】h E P O をコードするトリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * m R N A が、週に 6 回の投与後に、インビボで高い発現を維持することを実証するデータのグラフを示す。

【図 3 5】h E P O をコードするトリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * m R N A が、週 6 回の投与後に、低い抗 P E G I g M レベルを誘導することを実証するデータのグラフを示す。

【図 3 6】h E P O をコードするトリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * m R N A が、m R N A 対照と同様の低い B 細胞活性化を示すことを実証するデータのグラフを示す。

【図 3 7 A】G 4 7 A * T 7 R N A ポリメラーゼバリエントがインデル頻度に影響しないことを示す。

【図 3 7 B】G 4 7 A * T 7 R N A ポリメラーゼバリエントが点変異頻度に影響しないことを示す。

【発明を実施するための形態】

【0074】

本開示は、例えば、インビトロ転写 (I V T) 反応中に生成されたランオン転写物及び / または二本鎖混入物を減少させながら、転写効率及び 3 ' 均一性を増加させる、R N A ポリメラーゼ (R N A P) バリエントを提供する。いくつかの実施形態では、単一のアミノ酸置換を含むこれらの R N A P バリエントは、開始複合体から伸長複合体への R N A P

10

20

30

40

50

コンフォメーション転移を促進し、それにより転写開始段階に関連する問題の多くを軽減する。

【0075】

DNA依存性RNAポリメラーゼ（例えば、T7 RNAポリメラーゼ）のN末端Cヘリックス及び/またはCリンカー構造（複数可）の修飾（複数可）が、伸長複合体へのポリメラーゼのコンフォメーション平衡を推進し、DNA鋳型プロモーターの放出及び高度に進行性の伸長段階の開始を促進することを示す予測しなかった実験結果が本明細書で提供される。驚くべきことに、IVT反応における本明細書で提供されるポリメラーゼバリエーションの使用は、生成された転写物間の3'不均一性を低減し、二本鎖混入物の生成も低減（または排除）する。さらに、結果は、ポリメラーゼバリエーションを使用して生成された転写物の純度及び発現レベルが、野生型ポリメラーゼを使用して生成された転写物のものに匹敵することを示している。

10

【0076】

したがって、本開示のRNAポリメラーゼバリエーションの使用は、IVT反応生成物に関連する問題の多くを減らす。野生型T7 RNAポリメラーゼ（RNAP）は、産業界及び学界の両方で一般的に使用されており、その活性のうちのいくつかは、得られるRNA転写物の純度を著しく損なう。特に、この野生型T7 RNAP酵素を使用すると、RNA転写物の3'末端への、ヌクレオチドの鋳型のない（non-templated）付加がもたらされる。例えば、野生型T7 RNAPは、核酸塩基の同一性にとってほとんど好ましくないと思われる、少なくとも1つ、しばしば2つ以上の鋳型なしのヌクレオチドを3'末端に挿入する。驚くべきことに、本明細書で提供されるT7 RNAPバリエーションは3'不均一性の発生を低減させる。いくつかの実施形態では、本開示のRNAポリメラーゼバリエーションを使用してIVTによって生成されたRNA転写物の30%未満が3'不均一性を示す。いくつかの実施形態では、本開示のRNAポリメラーゼバリエーションを使用してIVTによって生成されたRNA転写物の20%未満（例えば、15%、10%、または5%未満）が3'不均一性を示す。いくつかの実施形態では、IVTによって生成されたRNA転写物の1~20%、1~15%、1~10%、または1~5%が3'不均一性を示す。いくつかの実施形態では、本開示のRNAポリメラーゼバリエーションを使用してIVTによって生成されたRNA転写物の1%未満が3'不均一性を示す。

20

【0077】

したがって、例えばIVT反応における、本開示のRNAポリメラーゼバリエーションの使用は、「より均質な」RNA転写物（3'末端における不均一性が低減し/均一性が増大したRNA転写物の集団）の生成をもたらす。いくつかの実施形態では、本開示のRNAポリメラーゼバリエーションを使用して生成されたRNA転写物の少なくとも70%が3'均一性を示す。いくつかの実施形態では、本開示のRNAポリメラーゼバリエーションを使用して生成されたRNA転写物の少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、または少なくとも95%が3'均一性を示す。いくつかの実施形態では、本開示のRNAポリメラーゼバリエーションを使用して生成されたRNA転写物の少なくとも90%が3'均一性を示す。いくつかの実施形態では、本開示のRNAポリメラーゼバリエーションを使用して生成されたRNA転写物の少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%が3'均一性を示す。

30

40

【0078】

また、本明細書において、驚くべきことは、アミノ酸置換（例えば、配列番号1のS43A及び/またはG47A）またはC末端付加（例えば、1つ以上のアミノ酸が付加されたWT、S43A*、及び/またはG47A*）T7 RNAポリメラーゼバリエーションを使用して生成されたRNA転写物は、任意選択により未精製の形態で（例えば、逆相クロマトグラフィーにより精製されずに）細胞に送達されたときに、野生型RNAポリメラーゼを使用して生成されたRNAに比べて低いサイトカイン応答を刺激する示す結果であっ

50

た。いくつかの実施形態では、本開示の T7 RNA 変異型ポリメラーゼを使用して生成された RNA 転写物を受け取った細胞からの検出可能なサイトカイン応答はない。いくつかの実施形態では、RNA ポリメラーゼバリエーション（例えば、T7 RNAP S43A* バリエーション及び/または T7 RNAP G47A* バリエーション）を使用して生成された RNA は、野生型 RNA ポリメラーゼを使用して生成された RNA と比較して、少なくとも 50%（例えば、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、または 100%）低いサイトカイン応答を刺激する。いくつかの実施形態では、RNA ポリメラーゼバリエーション（例えば、T7 RNAP S43A* バリエーション及び/または T7 RNAP G47A* バリエーション）を使用して生成された RNA は、野生型 RNA ポリメラーゼを使用して生成された RNA と比較して、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、50~100%、60~70%、60~80%、60~90%、60~100%、70~80%、70~90%、70~100%、80~90%、80~100%、または 90~100% 低いサイトカイン応答を刺激する。いくつかの実施形態では、RNA ポリメラーゼバリエーション（例えば、T7 RNAP S43A* バリエーション及び/または T7 RNAP G47A* バリエーション）を使用して生成された RNA は、野生型 RNA ポリメラーゼを使用して生成された RNA と比較して、少なくとも 2 倍、3 倍、4 倍、または 5 倍低いサイトカイン応答を刺激する。いくつかの実施形態では、サイトカイン応答を試験するために使用される細胞は、ヒト線維芽細胞（例えば、BJ (ATCC (登録商標) CRL-2522 (商標)) 細胞）である。いくつかの実施形態では、サイトカイン応答を試験するために使用される細胞は、単球由来マクロファージ (MDM) である。

10

20

【0079】

いくつかの実施形態では、RNA ポリメラーゼバリエーションを使用して生成された dsRNA 転写物の濃度は、野生型ポリメラーゼを使用して生成された dsRNA 転写産物と比較して、少なくとも 50%（例えば、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、または 100%）低い。いくつかの実施形態では、生成された dsRNA 転写物の濃度は、野生型ポリメラーゼを使用して生成された dsRNA 転写物と比較して、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、50~100%、60~70%、60~80%、60~90%、60~100%、70~80%、70~90%、70~100%、80~90%、80~100%、または 90~100% 低い。いくつかの実施形態では、生成された dsRNA 転写物の濃度は、野生型ポリメラーゼを使用して生成された dsRNA 転写物と比較して、少なくとも 2 倍、3 倍、4 倍、または 5 倍低い。

30

【0080】

本開示の RNA ポリメラーゼバリエーションの使用により、二本鎖混入物の生成及びより少ないランオン転写物の生成が予想外にもたらされた。

【0081】

いくつかの実施形態では、RNA ポリメラーゼバリエーションを使用して例えば IVT によって生成された RNA 転写物の 50% 未満（例えば、45% 未満、40% 未満、35% 未満、30% 未満、25% 未満、20% 未満、15% 未満、10% 未満、5% 未満、または 1% 未満）は、二本鎖混入物である。いくつかの実施形態において、生成された RNA 転写産物の 1~50%、1~40%、1~30%、1~20%、1~10%、1~5%、5~50%、5~40%、5~30%、5~20%、5~10%、10~50%、10~40%、10~30%、または 10~20% は、二本鎖混入物である。

40

【0082】

いくつかの実施形態において、RNA ポリメラーゼバリエーションを使用して生成された RNA 転写産物の 50% 未満（例えば、45% 未満、40% 未満、35% 未満、30% 未満、25% 未満、20% 未満、15% 未満、10% 未満、5% 未満、または 1% 未満）は、ランオン RNA 転写産物である。いくつかの実施形態では、生成された RNA 転写物の 1~50%、1~40%、1~30%、1~20%、1~10%、1~5%、5~50%、

50

5 ~ 40 %、5 ~ 30 %、5 ~ 20 %、5 ~ 10 %、10 ~ 50 %、10 ~ 40 %、10 ~ 30 %、または10 ~ 20 %は、ランオンRNA転写物である。

【0083】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼバリエーションを使用して生成された全長RNA転写物の量は、DNA鋳型の量よりも少なくとも15倍大きい。例えば、生成された全長RNA転写物の量は、DNA鋳型の量よりも少なくとも20倍、30倍、40倍、45倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、または100倍大きいものであり得る。いくつかの実施形態では、生成された全長RNA転写物の量は、DNA鋳型の量よりも15 ~ 100倍、15 ~ 90倍、15 ~ 80倍、15 ~ 70倍、15 ~ 60倍、15 ~ 50倍、15 ~ 40倍、15 ~ 30、15 ~ 20倍、20 ~ 100倍、20 ~ 90倍、20 ~ 80倍、20 ~ 70倍、20 ~ 60倍、20 ~ 50倍、20 ~ 40倍、または20 ~ 30倍大きいものであり得る。いくつかの実施形態において、生成された全長RNA転写物の量は、DNA鋳型の量よりも2倍、3倍、4倍、または5倍大きい。

10

【0084】

いくつかの実施形態では、二本鎖混入物：RNAポリメラーゼバリエーションを使用して生成された完全長RNA転写物の比は、1 : 1未満である。たとえば、二本鎖混入物：生成された完全長RNA転写物の比率は、0.9 : 1、0.8 : 1、0.7 : 1、0.6 : 1、0.5 : 1、0.4 : 1、0.3 : 1、0.2 : 1、または0.1 : 1である。

【0085】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼバリエーションを使用して生成されたRNA転写物は、DNA鋳型と比較して、100ヌクレオチドあたり1未満の変異を有する。例えば、生成されたRNA転写物は、DNA鋳型と比較して、200、300、400、500、600、700、800、900、または1000ヌクレオチドあたり1未満の変異を有し得る。

20

【0086】

RNAポリメラーゼ

RNAポリメラーゼ（DNA依存性RNAポリメラーゼ）は、成長中のRNA鎖の3'末端へのリボヌクレオチドの連続的な付加を触媒する酵素であり（5' → 3'方向のRNAの転写）、ヌクレオシド三リン酸（NTP）を酵素の基質として作用し、ヌクレオチドの配列はDNA鋳型によって特定される。転写は、塩基の相補的対合に依存する。二重ヘリックスの2本の鎖は局所的に分離し、分離した鎖の1つは鋳型（DNA鋳型）として機能する。次いで、RNAポリメラーゼは、鋳型中の相補的な塩基によって、DNA鋳型上の遊離ヌクレオチドのアライメントを触媒する。したがって、ポリメラーゼが成長中のRNA鎖の3'末端へのリボヌクレオチドの連続的な追加を触媒する場合、RNAポリメラーゼはRNAポリメラーゼ活性を有するとみなす。

30

【0087】

T7 RNAポリメラーゼ（T7 RNAP）は、バクテリオファージT7のゲノムによりコードされる99 kDaのDNA依存性RNAポリメラーゼであり、T7ファージプロモーターに非常に特異的である。T7 RNAPの構造研究により、N末端ドメインのコンフォメーションが転写の開始段階と伸長段階との間で大きく変化することが示されている。N末端ドメインは、Cヘリックスサブドメイン及びプロモーター結合ドメイン（サブドメインHで分離された2つのセグメントを含む）を含む。プロモーター結合ドメイン及び結合したプロモーターは、8 nt RNA転写物の合成の際に約45度回転し、活性部位が拡張して成長中のヘテロ二本鎖を収容しながら、プロモーターの接触の維持が可能となる。Cヘリックスサブドメインは、その伸長コンフォメーションに向かって緩やかに移動するのに対し、サブドメインHは、伸長段階の位置でなく、開始段階の位置のままであり、70オングストローム超離れる。T7 RNAP開始及び伸長複合体の構造の比較により、N末端267残基（N末端ドメイン）内の大きなコンフォメーション変化及びRNAPの残部のわずかな変化が明らかになった。プロモーター結合ドメインの剛体回転ならびに末端Cヘリックス（残基28 ~ 71）及びH（残基151 ~ 190）サブドメインのリ

40

50

フォールディングは、プロモーター結合部位の廃棄、活性部位の拡張、及びRNA転写物の出口トンネルの作出に関与している。N末端ドメイン内の構造変化は、伸長複合体の安定性の増加及び加工性の主な要因である（例えば、参照により本明細書に組み込まれる、Durniak, K. J. et al., Science 322 (5901): 553 - 557, 2008, を参照のこと）。

【0088】

いくつかの態様では、RNAP開始複合体からRNAP伸長複合体へのコンフォメーション変化を促進するRNAポリメラーゼバリエーション（例えば、T7 RNAPバリエーション）が本明細書で提供される。RNAポリメラーゼバリエーションは、RNAポリメラーゼ活性及び対応する野生型RNAポリメラーゼと比較して少なくとも1つの置換を有する酵素である。上に示したように、RNAポリメラーゼは、該ポリメラーゼが成長中のRNA鎖の3'末端へのリボヌクレオチドの連続的な付加を触媒する場合、RNAポリメラーゼ活性を有しているときみなされる。例えば、位置S43（例えば、S43A）またはG47（例えば、G47A）にアミノ酸置換を有する配列番号1のアミノ酸配列を含み、RNAポリメラーゼ活性を維持する酵素は、野生型T7 RNAP（配列番号1）のT7 RNAPバリエーションとみなされる。

10

【0089】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼバリエーションは、野生型RNAポリメラーゼと比較して、RNAポリメラーゼバリエーションが開始複合体から伸長複合体に移行するにつれて、RNAポリメラーゼバリエーションの少なくとも1つの三次元ループ構造にヘリックス構造へのコンフォメーション変化を受けさせる少なくとも1つのアミノ酸置換を含む。したがって、いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸修飾は、野生型アミノ酸と比較して高ヘリックス性向を有する。

20

【0090】

ループ構造の例には、T7 RNAPポリメラーゼ開始複合体（IC）コンフォメーションのCヘリックス構造中のアミノ酸（aa）42～47（例えば、配列番号1のaa28～71）及びCリンカー構造中のアミノ酸257～262（例えば、配列番号1のアミノ酸258～266）が含まれるが、これらに限定されない。

【0091】

C末端に少なくとも1つの追加のアミノ酸を含むRNAポリメラーゼバリエーション（例えば、T7 RNAPバリエーション）も本明細書で提供される。少なくとも1つの追加のアミノ酸は、いくつかの実施形態では、アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、スレオニン、トリプトファン、チロシン、及びバリンから選択される。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの追加のアミノ酸は、極性アミノ酸である。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの追加のアミノ酸は、非極性アミノ酸である。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの追加のアミノ酸は、グリシンである。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの追加のアミノ酸は、アラニンである。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの追加のアミノ酸は、セリンである。

30

40

【0092】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：FAFAX_n（配列番号171）を含み、xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5（例えば、1、2、3、4、または5）である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：FAFAG_n（配列番号330）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：FAFAA_n（配列番号331）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：FAFAR_n（配列番号332）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末

50

端は、以下のコンセンサス配列：F A F A N_n（配列番号3 3 3）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A D_n（配列番号3 3 4）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A C_n（配列番号3 3 5）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A E_n（配列番号3 3 6）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A Q_n（配列番号3 0 2）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A H_n（配列番号3 0 3）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A I_n（配列番号3 0 4）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A L_n（配列番号3 0 5）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A K_n（配列番号3 0 6）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A M_n（配列番号3 0 7）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A F_n（配列番号3 0 8）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A P_n（配列番号3 0 9）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A S_n（配列番号3 1 0）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A T_n（配列番号3 1 1）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A W_n（配列番号3 1 2）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A Y_n（配列番号3 1 3）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼのC末端は、以下のコンセンサス配列：F A F A V_n（配列番号3 1 4）を含み、nは任意の整数、例えば1～5である。

【0093】

いくつかの実施形態では、C末端モチーフ（F A F A（配列番号1 7 2）またはF A F A X_n（配列番号1 7 1））は、野生型T7 RNA P（例えば、配列番号1）と比較して、880位、881位、882位、または883位のうちの1つ以上にアミノ酸置換を含む。したがって、本開示は、様々なC末端F⁸⁸⁰A⁸⁸¹F⁸⁸²A⁸⁸³（配列番号1 7 2）モチーフを含み、880位、881位、882位、または883位のうちの1つ以上のアミノ酸が、野生型T7 RNA P（例えば、配列番号1）と比較して、追加のC末端アミノ酸（X_n）の有無にかかわらず、少なくとも1つのアミノ酸置換が含まれるように修飾されている。

【0094】

アミノ酸置換

本開示のRNAポリメラーゼバリエーションは、WT RNAポリメラーゼと比較して少なくとも1つのアミノ酸置換を含む。例えば、配列番号1のアミノ酸配列を有するWT T7 RNAポリメラーゼに関して、43位のセリンは「野生型アミノ酸」とみなされ、43位のセリンのアラニンへの置換は高いヘリックス性向を有する「アミノ酸置換」とみなされる。

【0095】

平均的な球状タンパク質は、30%の、最も一般的な種類の二次構造であるヘリックス

10

20

30

40

50

スを含む。いくつかのアミノ酸は、他のアミノ酸よりもヘリックスにおいてより頻繁に存在し、この傾向はヘリックス性向として知られている。例えば、Pace, N. C. and Scholtz, J. M. *Biophysical Journal*, 75: 422 - 427 (1998) を参照のこと。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのアミノ酸置換は、野生型アミノ酸と比較して高いヘリックス性向を有する。一般に、高ヘリックス性向のアミノ酸置換は、ポリメラーゼ配座異性体の集団を伸長複合体へと熱力学的に偏らせるように選択される。相対 G_s (自由エネルギー) は、公に利用可能なソフトウェア (例えば、ワシントン大学の Rosetta とシュレディンガーの Maestro) を使用して、IC 及び伸長複合体 (EC) 構造の置換について計算される。次いで、置換は、計算ならびに例えばアミノ酸ヘリックス性向及び/またはポリペプチド骨格 $\phi\psi$ 適合性を含む追加の知識に基づいて選択される。

10

【0096】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼバリエーションは、WT T7 RNAポリメラーゼ (例えば、配列番号1のアミノ酸配列を有するWT T7 RNAポリメラーゼ) と比較して少なくとも1つ (1つ以上) のアミノ酸置換を含むT7 RNAポリメラーゼバリエーションである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、高ヘリックス性向アミノ酸置換である。高ヘリックス性向アミノ酸の例には、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び/またはグルタミン酸が含まれる。

【0097】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼバリエーションは、C末端に少なくとも1つの追加のアミノ酸を含むT7 RNAポリメラーゼバリエーション (例えば、配列番号99、配列番号100、配列番号294、配列番号295、もしくは配列番号296、または配列番号99、配列番号100、配列番号294、配列番号295、もしくは配列番号296と90%~99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列) である。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼバリエーションは、WT T7 RNAポリメラーゼと比較して、C末端に少なくとも1つの追加のアミノ酸及びアミノ酸置換を含むT7 RNAポリメラーゼバリエーションである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、高ヘリックス性向アミノ酸置換である。

20

【0098】

本明細書では、コンフォメーション平衡を熱力学的にECへと偏らせる/支持する高いまたはより高いヘリックス性向のアミノ酸置換を特定するために使用し得る2つのアプローチが提供される。どちらのアプローチでも、(構造のレビュー、文献検索に基づいて) プロモーターの結合または触媒に直接関与する任意の位置へのアミノ酸置換を避けるように注意が払われる。方法Aでは、専用のソフトウェアを使用して、EC及びICの変異 (G_{mut}) によるタンパク質折りたたみの自由エネルギーの変化を算定する。望ましい配列位置でのすべての可能なアミノ酸置換は、この方法によって評価される。望ましいアミノ酸置換 (すなわち、ICよりもECを好む置換) は、 G_{mut} の差

30

【数1】

$$(\Delta\Delta G_{mut}^{EC} - \Delta\Delta G_{mut}^{IC})$$

40

が負であるアミノ酸置換である。方法Bでは、IC及びEC二次構造アノテーション (例えば、DSSPソフトウェアを使用したIC及びEC三次構造の3Dモデルから決定される (Dictionary of protein secondary structure: pattern recognition of hydrogen-bonded and geometrical features. Kabsch W, Sander C, *Biopolymers*. 1983 22 2577-2637)) は、IC中にループを有し、かつEC中にヘリックスを有する領域を同定するために検査される。次い

50

で、低ヘリックス性向を有する残基（例えばG l y）を有する配列位置を高ヘリックス性向のアミノ酸（例えばA l a）で置換する。T 7 R N A Pの場合、例えば、方法A及びBの変異（例えば、置換）オーバーラップ及び方法Bのトップ（t o p）バリエーションを同定した。

【0099】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1のアミノ酸42～47位（E 4 2、S 4 3、Y 4 4、E 4 5、M 4 6、及び/またはG 4 7）のいずれか1つにおける高ヘリックス性向アミノ酸（例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び/またはグルタミン酸）置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸42～47位（E 4 2、S 4 3、Y 4 4、E 4 5、M 4 6、及び/またはG 4 7）のいずれか1つにおける高ヘリックス性向アミノ酸（例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び/またはグルタミン酸）置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1のアミノ酸42位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1のアミノ酸43位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1のアミノ酸44位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1のアミノ酸45位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1のアミノ酸46位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1のアミノ酸47位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。

【0100】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296のアミノ酸42～47位（E 4 2、S 4 3、Y 4 4、E 4 5、M 4 6、及び/またはG 4 7）のいずれか1つにおける高ヘリックス性向アミノ酸（例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び/またはグルタミン酸）置換である。アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸42～47位（E 4 2、S 4 3、Y 4 4、E 4 5、M 4 6、及び/またはG 4 7）のいずれか1つにおける高ヘリックス性向アミノ酸（例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び/またはグルタミン酸）置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296のアミノ酸42位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296のアミノ酸43位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296のアミノ酸44位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296のアミノ酸45位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296のアミノ酸46位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296のアミノ酸47位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。

【0101】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1のアミノ酸42～47位のいずれか1つにおけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1と90～99%、例えば少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少

10

20

30

40

50

【 0 1 0 2 】

【 0 1 0 3 】

【 0 1 0 4 】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 のアミノ酸 42 ~ 47 位のいずれか 1 つにおけるイソロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 と 90 ~ 99 %、例えば、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 42 ~ 47 位のいずれか 1 つにおけるイソロイシンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 42 位におけるイソロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 43 位におけるイソロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、

294、295、または296の44位におけるイソロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の45位におけるイソロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の46位におけるイソロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の47位におけるイソロイシンである。

【0105】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1のアミノ酸42～47位のいずれか1つにおけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸42～47位のいずれか1つにおけるロイシンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の42位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の43位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の44位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の45位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の46位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の47位におけるロイシンである。

【0106】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296のアミノ酸42～47位のいずれか1つにおけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸42～47位のいずれか1つにおけるロイシンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の42位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の43位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の44位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の45位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の46位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の47位におけるロイシンである。

【0107】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1のアミノ酸42～47位のいずれか1つにおけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸42～47位のいずれか1つにおけるアルギニンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の42位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の43位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の44位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の45位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の46位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の47位におけるアルギニンである。

【0108】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 のアミノ酸 42 ~ 47 位のいずれか 1 つにおけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、配列番号 99、100、294、295、または 296 と 90 ~ 99 %、例えば、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 42 ~ 47 位のいずれか 1 つにおけるアルギニンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 42 位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 43 位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 44 位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 45 位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 46 位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 47 位におけるアルギニンである。

10

【0109】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 のアミノ酸 42 ~ 47 位のいずれか 1 つにおけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、配列番号 1 と 90 ~ 99 %、例えば、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 42 ~ 47 位のいずれか 1 つにおけるメチオニンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 42 位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 43 位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 44 位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 45 位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 46 位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 47 位におけるメチオニンである。

20

【0110】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 のアミノ酸 42 ~ 47 位のいずれか 1 つにおけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、配列番号 99、100、294、295、または 296 と 90 ~ 99 %、例えば、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 42 ~ 47 位のいずれか 1 つにおけるメチオニンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 42 位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 43 位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 44 位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 45 位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 46 位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 47 位におけるメチオニンである。

30

40

【0111】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 のアミノ酸 42 ~ 47 位のいずれか 1 つにおけるリジンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 と 90 ~ 99 %、例えば、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少

50

におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 46 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 47 位におけるグルタミン酸である。

【0115】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 のアミノ酸 42 ~ 47 位のいずれか 1 つにおけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 と 90 ~ 99 %、例えば、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 42 ~ 47 位のいずれか 1 つにおけるグルタミン酸である。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 42 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 43 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 44 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 45 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 46 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 47 位におけるグルタミン酸である。

【0116】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 のアミノ酸 42 ~ 47 位のいずれか 1 つにおけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 と 90 ~ 99 %、例えば、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 42 ~ 47 位のいずれか 1 つにおけるグルタミン酸である。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 42 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 43 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 44 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 45 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 46 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 47 位におけるグルタミン酸である。

【0117】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 のアミノ酸 257 ~ 262 位 (R257、A258、G259、A260、L261、及び/または A262) のいずれか 1 つにおける高ヘリックス性向アミノ酸 (例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び/またはグルタミン酸) 置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 と 90 ~ 99 %、例えば、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 257 ~ 262 位 (R257、A258、G259、A260、L261、及び/または A262) のいずれか 1 つにおける高ヘリックス性向アミノ酸 (例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び/またはグルタミン酸) 置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 のアミノ酸 257 位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 のアミノ酸 258 位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 のアミノ酸 259 位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 のア

10

20

30

40

50

ミノ酸 260 位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 のアミノ酸 261 位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 のアミノ酸 262 位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。

【0118】

アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 のアミノ酸 257 ~ 262 位 (R257、A258、G259、A260、L261、及び/または A262) のいずれか 1 つにおける高ヘリックス性向アミノ酸 (例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び/またはグルタミン酸) 置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 と 90 ~ 99%、例えば、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、または少なくとも 99% の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 257 ~ 262 位 (R257、A258、G259、A260、L261、及び/または A262) のいずれか 1 つにおける高ヘリックス性向アミノ酸 (例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び/またはグルタミン酸) 置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 のアミノ酸 257 位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 のアミノ酸 258 位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 のアミノ酸 259 位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 のアミノ酸 260 位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 のアミノ酸 261 位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 のアミノ酸 262 位における高ヘリックス性向アミノ酸置換である。

【0119】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 のアミノ酸 257 ~ 262 位のいずれか 1 つにおけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 と 90 ~ 99%、例えば、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、または少なくとも 99% の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 257 ~ 262 位のいずれか 1 つにおけるアラニンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 257 位におけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 258 位におけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 259 位におけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 260 位におけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 261 位におけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 262 位におけるアラニンである。

【0120】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 のアミノ酸 257 ~ 262 位のいずれか 1 つにおけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 と 90 ~ 99%、例えば、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、または少なくとも 99% の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 257 ~ 262 位のいずれか 1 つにおけるアラニンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 257 位におけるアラニンである。いくつかの実施形態では、アミノ

10

20

30

40

50

【 0 1 2 1 】

20

【 0 1 2 2 】

30

【 0 1 2 3 】

50

る。

【 0 1 2 4 】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 のアミノ酸 257 ~ 262 位のいずれか 1 つにおけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 と 90 ~ 99 %、例えば、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 257 ~ 262 位のいずれか 1 つにおけるイソロイシンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 257 位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 258 位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 259 位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 260 位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 261 位におけるロイシンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 262 位におけるロイシンである。

10

【 0 1 2 5 】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 のアミノ酸 257 ~ 262 位のいずれか 1 つのアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 と 90 ~ 99 %、例えば、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 257 ~ 262 位のいずれか 1 つにおけるアルギニンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 257 位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 258 位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 259 位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 260 位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 261 位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 の 262 位におけるアルギニンである。

20

30

【 0 1 2 6 】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 のアミノ酸 257 ~ 262 位のいずれか 1 つのアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 と 90 ~ 99 %、例えば、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 257 ~ 262 位のいずれか 1 つにおけるアルギニンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 257 位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 258 位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 259 位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 260 位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 261 位におけるアルギニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 99、100、294、295、または 296 の 262 位におけるアルギニンである。

40

【 0 1 2 7 】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 1 のアミノ酸 257 ~ 262 位の

50

いずれか1つにおけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸257～262位のいずれか1つにおけるメチオニンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の257位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の258位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の259位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の260位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の261位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の262位におけるメチオニンである。

10

【0128】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296のアミノ酸257～262位のいずれか1つのメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸257～262位のいずれか1つにおけるメチオニンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の257位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の258位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の259位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の260位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の261位におけるメチオニンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の262位におけるメチオニンである。

20

【0129】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1のアミノ酸257～262位のいずれか1つのリジンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸257～262位のいずれか1つにおけるリジンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の257位におけるリジンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の258位におけるリジンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の259位におけるリジンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の260位におけるリジンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の261位におけるリジンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号1の262位におけるリジンである。

30

40

【0130】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296のアミノ酸257～262位のいずれか1つのリジンである。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296と90～99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸257～262位のいずれか1つにおけるリジンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号99、100、294、295、または296の257位におけるリジンである。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ

50

【 0 1 3 1 】

20

【 0 1 3 2 】

30

【 0 1 3 3 】

50

ミノ酸置換は、配列番号 1 の 2 6 2 位におけるグルタミン酸である。

【 0 1 3 4 】

いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 のアミノ酸 2 5 7 ~ 2 6 2 位のいずれか 1 つのグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 2 5 7 ~ 2 6 2 位のいずれか 1 つにおけるグルタミン酸である。したがって、いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 2 5 7 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 2 5 8 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 2 5 9 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 2 6 0 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 2 6 1 位におけるグルタミン酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸置換は、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 の 2 6 2 位におけるグルタミン酸である。

10

【 0 1 3 5 】

いくつかの実施形態では、T 7 RNA ポリメラーゼバリエントは、位置 G 4 7、S 4 3、R 2 5 7、及び/または G 2 5 9 において高ヘリックス性向アミノ酸のアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号 1 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、T 7 RNA ポリメラーゼバリエントは、位置 G 4 7、S 4 3、R 2 5 7、及び/または G 2 5 9 において高ヘリックス性向アミノ酸のアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号 1 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

20

【 0 1 3 6 】

いくつかの実施形態では、T 7 RNA ポリメラーゼバリエントは、位置 G 4 7、S 4 3、R 2 5 7、及び/または G 2 5 9 において高ヘリックス性向アミノ酸のアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、T 7 RNA ポリメラーゼバリエントは、位置 G 4 7、S 4 3、R 2 5 7、及び/または G 2 5 9 において高ヘリックス性向アミノ酸のアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

30

【 0 1 3 7 】

いくつかの実施形態では、T 7 RNA ポリメラーゼバリエントは、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、T 7 RNA ポリメラーゼバリエントは、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、T 7 RNA ポリメラーゼバリエントは、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、T 7 RNA ポリメラーゼバリエントは、配列番号 5 のアミノ酸配列を含む。

40

【 0 1 3 8 】

いくつかの実施形態では、T 7 RNA ポリメラーゼバリエントは、配列番号 1 0 7 または 1 0 8 のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、T 7 RNA ポリメラーゼバリエントは、配列番号 1 0 9 または 1 1 0 のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、T 7 RNA ポリメラーゼバリエントは、配列番号 1 1 1 または 1 1 2 のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、T 7 RNA ポリメラーゼバリエントは、配列番号 1 1 3 または 1 1 4 のアミノ酸配列を含む。

50

【 0 1 3 9 】

少なくとも2つ(2つ以上)の置換を有するRNAポリメラーゼバリエーションも本明細書で提供される。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、配列番号1または配列番号1と90~99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸42~47位(E42、S43、Y44、E45、M46、及び/またはG47)及び/またはアミノ酸257~262位(R257、A258、G259、A260、L261、及び/またはA262)のいずれか1つにおける少なくとも2つの高ヘリックス性向アミノ酸(例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び/またはグルタミン酸)置換を含む。

10

【 0 1 4 0 】

例えば、RNAポリメラーゼバリエーションは、配列番号1または配列番号1と90~99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のE42及びS43、E42及びY44、E42及びE45、E42及びM46、E42及びG47、S43及びY44、S43及びE45、S43及びM46、S43及びG47、Y44及びE45、Y44及びM46、Y44及びG47、E45及びM46、E45及びG47、またはM46及びG47におけるアミノ酸置換(例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び/またはグルタミン酸)を含み得る。

20

【 0 1 4 1 】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼバリエーションは、配列番号1または配列番号1と90~99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のR257及びA258、R257及びG259、R257及びA260、R257及びL261、R257及びA262、A258及びG259、A258及びA260、A258及びL261、A258及びA262、G259及びA260、G259及びL261、G259及びA262、A260及びL261、A260及びA262、またはL261及びA262におけるアミノ酸置換(例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び/またはグルタミン酸)を含み得る。

30

【 0 1 4 2 】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼバリエーションは、配列番号1または配列番号1と90~99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列のE42及びR257、E42及びA258、E42及びG259、E42及びA260、E42及びL261、E42及びA262、S43及びR257、S43及びA258、S43及びG259、S43及びA260、S43及びL261、S43及びA262、Y44及びR257、Y44及びA258、Y44及びG259、Y44及びA260、Y44及びL261、Y44及びA262、E45及びR257、E45及びA258、E45及びG259、E45及びA260、E45及びL261、E45及びA262、M46及びR257、M46及びA258、M46及びG259、M46及びA260、M46及びL261、M46及びA262、G47及びR257、G47及びA258、G47及びG259、G47及びA260、G47及びL261、またはG47及びA262におけるアミノ酸置換(例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び/またはグルタミン酸)を含み得る。

40

【 0 1 4 3 】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、配列番号1または配列番号1と90~99%、例えば、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するアミノ酸配列の

50

S 4 3 A 及び G 4 7 A におけるアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、配列番号 1 または配列番号 1 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列の S 4 3 A 及び R 2 5 7 A におけるアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、配列番号 1 または配列番号 1 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列の S 4 3 A 及び G 2 5 9 A におけるアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、配列番号 1 または配列番号 1 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列の G 4 7 A 及び R 2 5 7 A におけるアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、配列番号 1 または配列番号 1 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列の R 2 5 7 A 及び G 2 5 9 A におけるアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、配列番号 1 または配列番号 1 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列の G 4 7 A 及び G 2 5 9 A におけるアミノ酸置換を含む。

10

20

【 0 1 4 4 】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼバリエントは、配列番号 1 または配列番号 1 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 4 2 ~ 4 7 位 (E 4 2、S 4 3、Y 4 4、E 4 5、M 4 6、及び/または G 4 7) 及び/またはアミノ酸 2 5 7 ~ 2 6 2 位 (R 2 5 7、A 2 5 8、G 2 5 9、A 2 6 0、L 2 6 1、及び/または A 2 6 2) のいずれかが 1 つにおける少なくとも 3 つ (30 しくは少なくとも 4 つ、または少なくとも 5 つ) の高ヘリックス性向アミノ酸 (例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び/またはグルタミン酸) 置換を含む。

30

【 0 1 4 5 】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼバリエントは、E 4 2 R、S 4 3 A、S 4 3 E、S 4 3 L、S 4 3 R、E 4 5 R、E 4 5 L、M 4 6 A、G 4 7 A、G 4 7 E、G 4 7 L、G 4 7 R、N 1 6 5 W、E 1 6 7 M、E 1 6 7 N、E 1 6 8 I、E 1 6 8 T、E 1 6 8 V、A 1 8 1 F、A 1 8 1 W、G 1 8 4 M、E 1 8 7 F、A 2 5 5 Q、A 2 5 5 K、A 2 5 5 I、A 2 5 5 Y、R 2 5 7 A、R 2 5 7 E、R 2 5 7 L、R 2 5 7 W、G 2 5 9 A、G 2 5 9 E、G 2 5 9 L、G 2 5 9 R、A 2 6 0 W、及び A 2 6 0 R から選択される、配列番号 1 または配列番号 1 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列における少なくとも 1 つ (40 しくは少なくとも 2 つ、もしくは少なくとも 3 つ、もしくは少なくとも 4 つ、または少なくとも 5 つ) のアミノ酸置換 (複数可) を含む。

40

【 0 1 4 6 】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼは、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 または配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列の

50

アミノ酸 4 2 ~ 4 7 位 (E 4 2、S 4 3、Y 4 4、E 4 5、M 4 6、及び/または G 4 7) 及び/またはアミノ酸 2 5 7 ~ 2 6 2 位 (R 2 5 7、A 2 5 8、G 2 5 9、A 2 6 0、L 2 6 1、及び/または A 2 6 2) のいずれか 1 つにおける少なくとも 2 つの高ヘリックス性向アミノ酸 (例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び/またはグルタミン酸) 置換を含む。

【 0 1 4 7 】

例えば、RNA ポリメラーゼバリエーションは、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 または配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸位置 E 4 2 及び S 4 3、E 4 2 及び Y 4 4、E 4 2 及び E 4 5、E 4 2 及び M 4 6、E 4 2 及び G 4 7、S 4 3 及び Y 4 4、S 4 3 及び E 4 5、S 4 3 及び M 4 6、S 4 3 及び G 4 7、Y 4 4 及び E 4 5、Y 4 4 及び M 4 6、Y 4 4 及び G 4 7、E 4 5 及び M 4 6、E 4 5 及び G 4 7、または M 4 6 及び G 4 7 におけるアミノ酸置換 (例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び/またはグルタミン酸) を含み得る。

10

【 0 1 4 8 】

いくつかの実施形態では、RNA ポリメラーゼバリエーションは、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 または配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸位置 R 2 5 7 及び A 2 5 8、R 2 5 7 及び G 2 5 9、R 2 5 7 及び A 2 6 0、R 2 5 7 及び L 2 6 1、R 2 5 7 及び A 2 6 2、A 2 5 8 及び G 2 5 9、A 2 5 8 及び A 2 6 0、A 2 5 8 及び L 2 6 1、A 2 5 8 及び A 2 6 2、G 2 5 9 及び A 2 6 0、G 2 5 9 及び L 2 6 1、G 2 5 9 及び A 2 6 2、A 2 6 0 及び L 2 6 1、A 2 6 0 及び A 2 6 2、または L 2 6 1 及び A 2 6 2 におけるアミノ酸置換 (例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び/またはグルタミン酸) を含む。

20

【 0 1 4 9 】

いくつかの実施形態では、RNA ポリメラーゼバリエーションは、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 または配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸位置 E 4 2 及び R 2 5 7、E 4 2 及び A 2 5 8、E 4 2 及び G 2 5 9、E 4 2 及び A 2 6 0、E 4 2 及び L 2 6 1、E 4 2 及び A 2 6 2、S 4 3 及び R 2 5 7、S 4 3 及び A 2 5 8、S 4 3 及び G 2 5 9、S 4 3 及び A 2 6 0、S 4 3 及び L 2 6 1、S 4 3 及び A 2 6 2、Y 4 4 及び R 2 5 7、Y 4 4 及び A 2 5 8、Y 4 4 及び G 2 5 9、Y 4 4 及び A 2 6 0、Y 4 4 及び L 2 6 1、Y 4 4 及び A 2 6 2、E 4 5 及び R 2 5 7、E 4 5 及び A 2 5 8、E 4 5 及び G 2 5 9、E 4 5 及び A 2 6 0、E 4 5 及び L 2 6 1、E 4 5 及び A 2 6 2、M 4 6 及び R 2 5 7、M 4 6 及び A 2 5 8、M 4 6 及び G 2 5 9、M 4 6 及び A 2 6 0、M 4 6 及び L 2 6 1、M 4 6 及び A 2 6 2、G 4 7 及び R 2 5 7、G 4 7 及び A 2 5 8、G 4 7 及び G 2 5 9、G 4 7 及び A 2 6 0、G 4 7 及び L 2 6 1、または G 4 7 及び A 2 6 2 におけるアミノ酸置換 (例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び/またはグルタミン酸) を含む。

30

40

【 0 1 5 0 】

いくつかの実施形態では、RNA ポリメラーゼは、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 または配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列の

50

アミノ酸置換 S 4 3 A 及び G 4 7 A を含む。いくつかの実施形態では、RNA ポリメラーゼは、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 または配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸置換 S 4 3 A 及び R 2 5 7 A を含む。いくつかの実施形態では、RNA ポリメラーゼは、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 または配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸置換 S 4 3 A 及び G 2 5 9 A を含む。いくつかの実施形態では、RNA ポリメラーゼは、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 または配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸置換 G 4 7 A 及び R 2 5 7 A を含む。いくつかの実施形態では、RNA ポリメラーゼは、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 または配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸置換 R 2 5 7 A 及び G 2 5 9 A を含む。いくつかの実施形態では、RNA ポリメラーゼは、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 または配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸置換 G 4 7 A 及び G 2 5 9 A を含む。

【0151】

いくつかの実施形態では、RNA ポリメラーゼバリエントは、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 または配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、または 2 9 6 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列のアミノ酸 4 2 ~ 4 7 位 (E 4 2、S 4 3、Y 4 4、E 4 5、M 4 6、及び / または G 4 7) 及び / またはアミノ酸 2 5 7 ~ 2 6 2 位 (R 2 5 7、A 2 5 8、G 2 5 9、A 2 6 0、L 2 6 1、及び / または A 2 6 2) のいずれか 1 つにおける少なくとも 3 つ (もしくは少なくとも 4 つ、または少なくとも 5 つ) の高ヘリックス性向アミノ酸 (例えば、アラニン、イソロイシン、ロイシン、アルギニン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び / またはグルタミン酸) 置換を含む。

【0152】

いくつかの実施形態では、RNA ポリメラーゼバリエントは、E 4 2 R、S 4 3 A、S 4 3 E、S 4 3 L、S 4 3 R、E 4 5 R、E 4 5 L、M 4 6 A、G 4 7 A、G 4 7 E、G 4 7 L、G 4 7 R、N 1 6 5 W、E 1 6 7 M、E 1 6 7 N、E 1 6 8 I、E 1 6 8 T、E 1 6 8 V、A 1 8 1 F、A 1 8 1 W、G 1 8 4 M、E 1 8 7 F、R 2 5 7 A、R 2 5 7 E、R 2 5 7 L、R 2 5 7 W、G 2 5 9 A、G 2 5 9 E、G 2 5 9 L、G 2 5 9 R、A 2 6 0 W、及び A 2 6 0 R から選択される、配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、もしくは 2 9 6 または配列番号 9 9、1 0 0、2 9 4、2 9 5、もしくは 2 9 6 と 9 0 ~ 9 9 %、例えば、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、もしくは少なくとも 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列における少なくとも 1 つ (もしくは少なくとも 2 つ、もしくは少なくとも 3 つ、もしくは少なくと

も4つ、または少なくとも5つ)のアミノ酸置換(複数可)を含む。

【0153】

いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼバリエーションは、E42R、S43A、S43E、S43L、S43R、E45R、E45L、M46A、G47A、G47E、G47L、G47R、N165W、E167M、E167N、E168I、E168T、E168V、A181F、A181W、G184M、E187F、R257A、R257E、R257L、R257W、G259A、G259E、G259L、G259R、A260W、及びA260Rから選択される、少なくとも1つ(もしくは少なくとも2つ、もしくは少なくとも3つ、もしくは少なくとも4つ、または少なくとも5つ)のアミノ酸置換(複数可)を含み、少なくとも1つ(もしくは少なくとも2つ、もしくは少なくとも3つ、もしくは少なくとも4つ、または少なくとも5つ)の他のアミノ酸置換(例えば、本明細書に提供されていないアミノ酸置換)をさらに含む。

10

【0154】

したがって、本開示は、E42R、S43A、S43E、S43L、S43R、E45R、E45L、M46A、G47A、G47E、G47L、G47R、N165W、E167M、E167N、E168I、E168T、E168V、A181F、A181W、G184M、E187F、A255K、A255Q、A255Y、A255I、R257A、R257E、R257L、R257W、G259A、G259E、G259L、G259R、A260W、及びA260Rから選択される少なくとも1つ(もしくは少なくとも2つ、もしくは少なくとも3つ、もしくは少なくとも4つ、または少なくとも5つ)のアミノ酸置換(複数可)を含み、配列番号1と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有する、RNAポリメラーゼバリエーションを含む。

20

【0155】

「同一性」という用語は、配列を比較することにより決定される2つ以上のポリペプチド(例えば酵素)またはポリヌクレオチド(核酸)の配列間の関係を指す。同一性はまた、2つ以上のアミノ酸残基または核酸残基のストリング間の一致数によって決定される配列間または配列の間での配列関連性の程度も指す。同一性は、特定の数学的モデルまたはコンピュータープログラム(例えば、「アルゴリズム」)によって指定されたギャップアライメント(存在する場合)を有する2つ以上の配列間の同一性一致のパーセントを測定する。関連するタンパク質または核酸の同一性は、既知の方法で容易に計算することができる。ポリペプチドまたはポリヌクレオチド配列に適用される「同一性パーセント(%)」(percent(%)identity)は、配列をアラインさせ、必要に応じてギャップを導入して、最大パーセントの同一性を達成した後の第2の配列のアミノ酸配列または核酸配列中の残基と同一である候補アミノ酸または核酸配列中の残基(アミノ酸残基または核酸残基)のパーセントとして定義される。アライメントのための方法及びコンピュータープログラムは、当該分野で周知である。同一性は、同一性パーセントの計算に依るが、計算に導入されるギャップ及びペナルティにより値が異なる場合があることが理解される。一般的に、特定のポリヌクレオチドまたはポリペプチド(例えば、抗原)のバリエーションは、本明細書に記載され、当業者に既知である配列アライメントプログラム及びパラメーターによって決定される特定の参照ポリヌクレオチドまたはポリペプチドのものに対して、少なくとも40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%であるが、100%未満の配列同一性を有する。そのようなアライメント用ツールには、BLASTスイートのツールが含まれる(Stephen F. Altschul, et al (1997), 「Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs」, Nucleic Acids Res. 25:3389-3402)。別の一般的なローカルアライメント手法は、Smith-Waterman

30

40

50

an アルゴリズムに基づく (Smith, T. F. & Waterman, M. S. (1981) "Identification of common molecular subsequences." J. Mol. Biol. 147:195-197)。ダイナミック (dynamic) プログラミングに基づく一般的なグローバルアライメント手法は、Needleman-Wunsch アルゴリズムである (Needleman, S. B. & Wunsch, C. D. (1970) "A general method applicable to the search for similarities in the amino acid sequences of two proteins." J. Mol. Biol. 48:443-453)。最近では、Needleman-Wunsch アルゴリズムを含む他の最適なグローバルアライメント手法よりも高速にヌクレオチド及びタンパク質配列のグローバルアライメントを生成するといわれる、Fast Optimal Global Sequence Alignment Algorithm (FOGSA) が開発された。

【0156】

トリヌクレオチドキャップ

リボ核酸 (RNA) 合成のための共転写キャッピング方法も本明細書で提供される。すなわち、RNA は「ワンポット (one-pot)」反応で生成され、別々のキャッピング反応を必要としない。したがって、本方法は、いくつかの実施形態では、RNA 転写物を生成するためのインビトロ転写反応条件下で、ポリヌクレオチド鋳型を T7 RNA ポリメラーゼバリエーション、ヌクレオシド三リン酸、及びキャップ類似体と反応させることを含む。

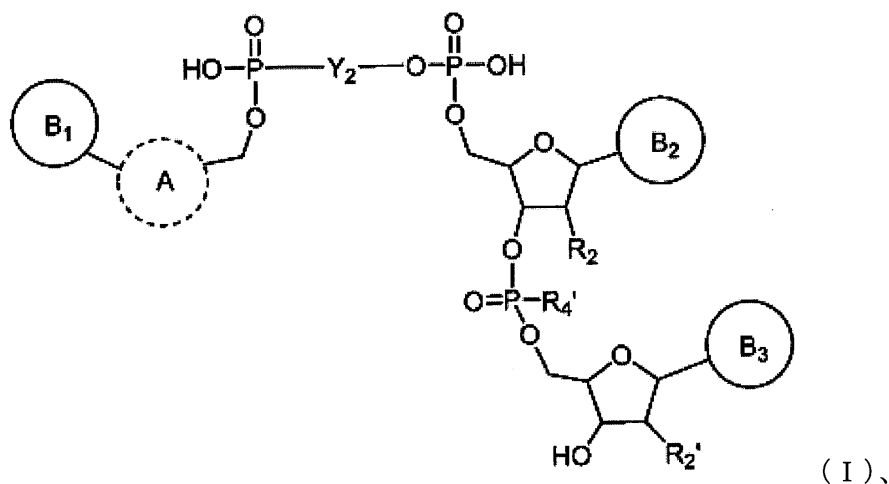
【0157】

キャップ類似体は、例えば、ジヌクレオチドキャップ、トリヌクレオチドキャップ、またはテトラヌクレオチドキャップであり得る。いくつかの実施形態では、キャップ類似体は、ジヌクレオチドキャップである。いくつかの実施形態では、キャップ類似体は、トリヌクレオチドキャップである。いくつかの実施形態では、キャップ類似体は、テトラヌクレオチドキャップである。

【0158】

トリヌクレオチドキャップは、いくつかの実施形態では、式 (I) の化合物

【化 1】



またはその立体異性体、互変異性体、もしくは塩を含み、式中、

10

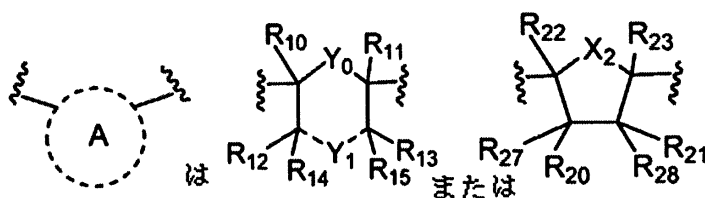
20

30

40

50

【化 2】



環 B₁ は、修飾または未修飾グアニンであり、

10

環 B₂ 及び環 B₃ はそれぞれ独立して、核酸塩基または修飾核酸塩基であり、

X₂ は O、S(O)_p、NR₂₄、または CR₂₅R₂₆ であり、p は 0、1、または 2 であり、

Y₀ は、O または CR₆R₇ であり、

Y₁ は、O、S(O)_n、CR₆R₇、または NR₈ であり、n は 0、1、または 2 であり、

各 - - - は、単結合または不存在であり、各 - - - が単結合の場合、Y_i は O、S(O)_n、CR₆R₇、または NR₈ であり、各 - - - が不存在である場合、Y₁ は空 (void) であり、

Y₂ は、(OP(O)R₄)_m (m は 0、1、または 2 である) または -O-(CR₄₀R₄₁)_u-Q₀-(CR₄₂R₄₃)_v- であり、ここで、Q₀ は結合、O、S(O)_r、NR₄₄、または CR₄₅R₄₆ であり、r は 0、1、または 2 であり、u 及び v の各々は、独立して、1、2、3 または 4 であり、

20

各 R₂ 及び R₂' は、独立して、ハロ、LNA、または OR₃ であり、

各 R₃ は、独立して、H、C₁-C₆ アルキル、C₂-C₆ アルケニル、または C₂-C₆ アルキニルであり、R₃ は、C₁-C₆ アルキル、C₂-C₆ アルケニル、または C₂-C₆ アルキニルである場合、ハロ、OH、または 1 つ以上の OH もしくは OC(O)-C₁-C₆ アルキルで任意選択により置換された C₁-C₆ アルコキシルのうちの 1 つ以上で任意選択により置換され、

各 R₄ 及び R₄' は、独立して、H、ハロ、C₁-C₆ アルキル、OH、SH、SeH、または BH₃- であり、

30

R₆、R₇、及び R₈ の各々は、独立して、-Q₁-T₁ であり、ここで、Q₁ は、結合、またはハロ、シアノ、OH、及び C₁-C₆ アルコキシのうちの 1 つ以上で任意選択により置換された C₁-C₃ アルキルリンカーであり、T₁ は、H、ハロ、OH、COOH、シアノ、または R_{s1} であり、ここで、R_{s1} は、C₁-C₃ アルキル、C₂-C₆ アルケニル、C₂-C₆ アルキニル、C₁-C₆ アルコキシル、C(O)O-C₁-C₆ アルキル、C₃-C₈ シクロアルキル、C₆-C₁₀ アリール、NR₃₁R₃₂、(NR₃₁R₃₂R₃₃)⁺、4~12 員のヘテロシクロアルキル、または 5 もしくは 6 員のヘテロアリールであり、R_{s1} は、ハロ、OH、オキソ、C₁-C₆ アルキル、COOH、C(O)O-C₁-C₆ アルキル、シアノ、C₁-C₆ アルコキシル、NR₃₁R₃₂、(NR₃₁R₃₂R₃₃)⁺、C₃-C₈ シクロアルキル、C₆-C₁₀ アリール、4~12 員のヘテロシクロアルキル、及び 5 または 6 員のヘテロアリールからなる群から選択される 1 つ以上の置換基で任意選択により置換され、

40

R₁₀、R₁₁、R₁₂、R₁₃R₁₄、及び R₁₅ の各々は、独立して、-Q₂-T₂ であり、ここで、Q₂ は、結合、またはハロ、シアノ、OH、及び C₁-C₆ アルコキシのうちの 1 つ以上で任意選択により置換された C₁-C₃ アルキルリンカーであり、T₂ は、H、ハロ、OH、NH₂、シアノ、NO₂、N₃、R_{s2}、または OR_{s2} であり、ここで、R_{s2} は、C₁-C₆ アルキル、C₂-C₆ アルケニル、C₂-C₆ アルキニル、C₃-C₈ シクロアルキル、C₆-C₁₀ アリール、NHC(O)-C₁-C₆ アルキル、NR₃₁R₃₂、(NR₃₁R₃₂R₃₃)⁺、4~12 員のヘテロシクロアルキル、または 5 もしくは

50

は6員のヘテロアリールあり、 R_{52} は、ハ口、OH、オキソ、 $C_1 - C_6$ アルキル、COOH、 $C(O)O - C_1 - C_6$ アルキル、シアノ、 $C_1 - C_6$ アルコキシル、 $NR_{31}R_{32}$ 、 $(NR_{31}R_{32}R_{33})^+$ 、 $C_3 - C_8$ シクロアルキル、 $C_6 - C_{10}$ アリール、4～12員のヘテロシクロアルキル、及び5または6員のヘテロアリールからなる群から選択される1つ以上の置換基で任意選択により置換され、あるいは R_{12} は R_{14} と一緒にオキソであり、または R_{13} は R_{15} と一緒にオキソであり、

R_{20} 、 R_{21} 、 R_{22} 、及び R_{23} の各々は、独立して、 $-Q_3 - T_3$ であり、ここで、 Q_3 は、結合、またはハ口、シアノ、OH、及び $C_1 - C_6$ アルコキシのうちの1つ以上で任意選択により置換された $C_1 - C_3$ アルキルリンカーであり、 T_3 は、H、ハ口、OH、 NH_2 、シアノ、 NO_2 、 N_3 、 R_{53} 、または OR_{53} であり、ここで、 R_{53} は、 $C_1 - C_6$ アルキル、 $C_2 - C_6$ アルケニル、 $C_2 - C_6$ アルキニル、 $C_3 - C_8$ シクロアルキル、 $C_6 - C_{10}$ アリール、 $NHC(O) - C_1 - C_6$ アルキル、モノ- $C_1 - C_6$ アルキルアミノ、ジ- $C_1 - C_6$ アルキルアミノ、4～12員のヘテロシクロアルキル、または5もしくは6員のヘテロアリールあり、 R_{53} は、ハ口、OH、オキソ、 $C_1 - C_6$ アルキル、COOH、 $C(O)O - C_1 - C_6$ アルキル、シアノ、 $C_1 - C_6$ アルコキシル、アミノ、モノ- $C_1 - C_6$ アルキルアミノ、ジ- $C_1 - C_6$ アルキルアミノ、 $C_3 - C_8$ シクロアルキル、 $C_6 - C_{10}$ アリール、4～12員のヘテロシクロアルキル、及び5または6員のヘテロアリールからなる群から選択される1つ以上の置換基で任意選択により置換され、 R_{24} 、 R_{25} 、及び R_{26} の各々は、独立して、Hまたは $C_1 - C_6$ アルキルであり、

R_{27} 及び R_{28} の各々は、独立して、Hまたは OR_{29} であり、あるいは R_{27} 及び R_{28} は一緒になって、 $O - R_{30} - O$ を形成し、各 R_{29} は、独立して、H、 $C_1 - C_6$ アルキル、 $C_2 - C_6$ アルケニル、または $C_2 - C_6$ アルキニルであり、 R_{29} は、 $C_1 - C_6$ アルキル、 $C_2 - C_6$ アルケニル、または $C_2 - C_6$ アルキニルである場合、ハ口、OH、または1つ以上のOHもしくは $OC(O) - C_1 - C_6$ アルキルで任意選択により置換された $C_1 - C_6$ アルコキシルのうちの1つ以上で任意選択により置換され、

R_{30} は、ハ口、OH、及び $C_1 - C_6$ アルコキシルのうちの1つ以上で任意選択により置換された $C_1 - C_6$ アルキレンであり、

R_{31} 、 R_{32} 、及び R_{33} の各々は、独立して、H、 $C_1 - C_6$ アルキル、 $C_3 - C_8$ シクロアルキル、 $C_6 - C_{10}$ アリール、4～12員のヘテロシクロアルキル、または5または6員のヘテロアリールであり、

R_{40} 、 R_{41} 、 R_{42} 、及び R_{43} の各々は、独立して、H、ハ口、OH、シアノ、 N_3 、 $OP(O)R_{47}R_{48}$ 、または1つ以上の $OP(O)R_{47}R_{48}$ で任意選択により置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、あるいは1つの R_{41} 及び1つの R_{43} は、それらが結合している炭素原子及び Q_0 と一緒に、 $C_4 - C_{10}$ シクロアルキル、4～14員のヘテロシクロアルキル、 $C_6 - C_{10}$ アリール、または5～14員のヘテロアリールを形成し、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、フェニル、または5～6員のヘテロアリールの各々は、OH、ハ口、シアノ、 N_3 、オキソ、 $OP(O)R_{47}R_{48}$ 、 $C_1 - C_6$ アルキル、 $C_1 - C_6$ ハ口アルキル、COOH、 $C(O)O - C_1 - C_6$ アルキル、 $C_1 - C_6$ アルコキシル、 $C_1 - C_6$ ハ口アルコキシル、アミノ、モノ- $C_1 - C_6$ アルキルアミノ、及びジ- $C_1 - C_6$ アルキルアミノのうちの1つ以上で任意選択により置換され、

R_{44} は、H、 $C_1 - C_6$ アルキル、またはアミン保護基であり、

R_{45} 及び R_{46} の各々は、独立して、H、 $OP(O)R_{47}R_{48}$ 、または1つ以上の $OP(O)R_{47}R_{48}$ で任意選択により置換された $C_1 - C_6$ アルキルであり、

R_{47} 及び R_{48} の各々は、独立して、H、ハ口、 $C_1 - C_6$ アルキル、OH、SH、SeH、または BH_3^- である。

【0159】

本明細書で提供されるキャップ類似体は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、2017年4月20日に公開された国際公開WO 2017/066797に記載のキャップ類似体のいずれかを含み得ることを理解されたい。

【0160】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、 B_2 中間位置は、アラビノースなどの非リボース分子であり得る。

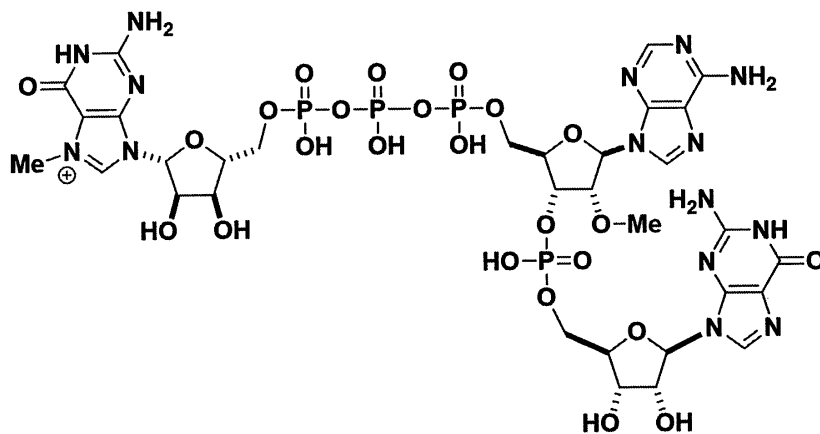
【0161】

いくつかの実施形態では、 R_2 はエチル系である。

【0162】

したがって、いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、以下の構造を含む：

【化3】



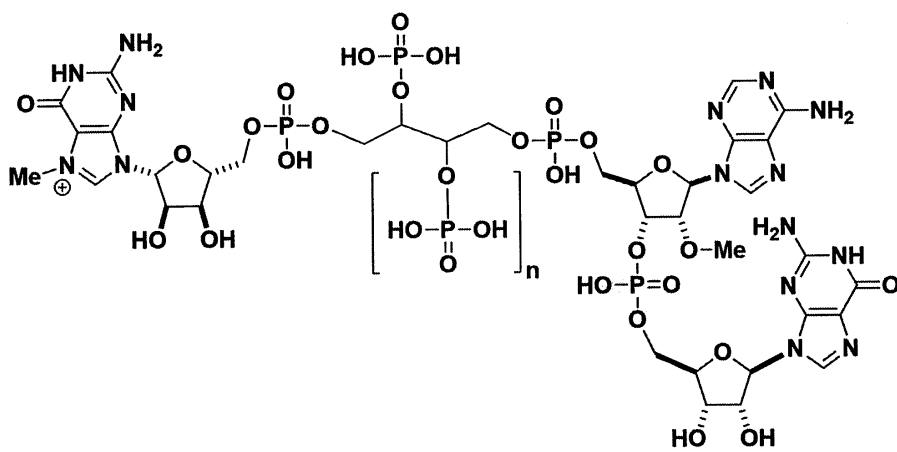
10

20

【0163】

他の実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、以下の構造を含む：

【化4】



30

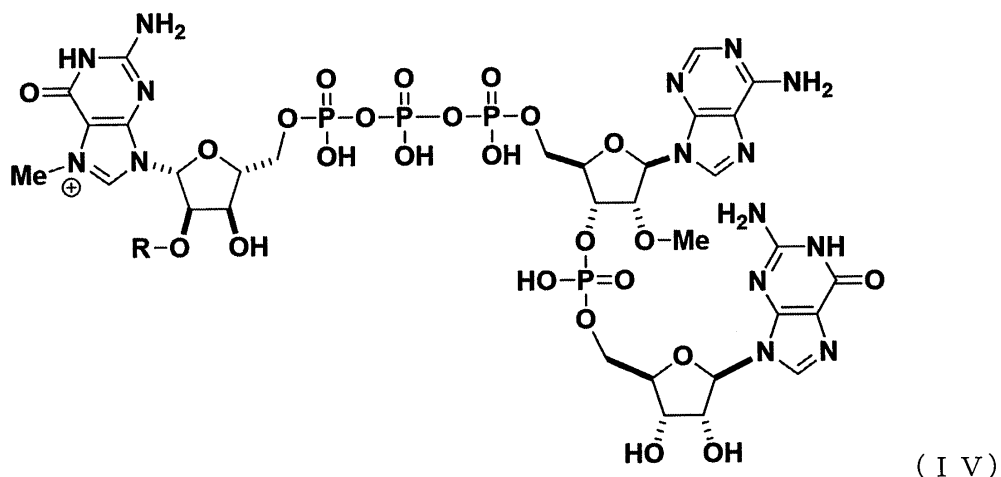
40

【0164】

さらに他の実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、以下の構造を含む：

50

【化 5】

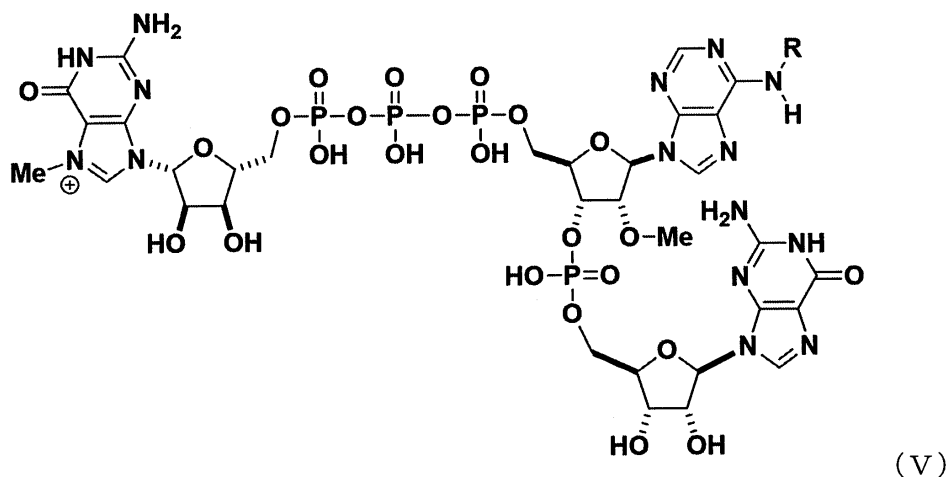


10

【0165】

さらに他の実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、以下の構造を含む：

【化 6】



20

30

【0166】

トリヌクレオチドキャップは、いくつかの実施形態では、以下の配列：GAA、GAC、GAG、GAU、GCA、GCC、GCG、GCU、GGA、GGC、GGG、GGU、GUA、GUC、GUG、及びGUUから選択される配列を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、GAAを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、GACを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、GAGを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、GAUを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、GCAを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、GCCを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、GCGを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、GCUを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、GGAを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、GGCを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、GGGを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、GGUを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、GUAを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、GUCを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、GU

40

50

【 0 1 6 7 】

【 0 1 6 8 】

20

【 0 1 6 9 】

30

【 0 1 7 0 】

50

Gを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 m^7G_3 OMe p p p U p Uを含む。

【0171】

トリヌクレオチドキャップは、いくつかの実施形態では、以下の配列： m^7G_3 OMe p p p A₂ OMe p A、 m^7G_3 OMe p p p A₂ OMe p C、 m^7G_3 OMe p p p A₂ OMe p G、 m^7G_3 OMe p p p A₂ OMe p U、 m^7G_3 OMe p p p C₂ OMe p A、 m^7G_3 OMe p p p C₂ OMe p C、 m^7G_3 OMe p p p C₂ OMe p G、 m^7G_3 OMe p p p C₂ OMe p U、 m^7G_3 OMe p p p G₂ OMe p A、 m^7G_3 OMe p p p G₂ OMe p C、 m^7G_3 OMe p p p G₂ OMe p G、 m^7G_3 OMe p p p G₂ OMe p U、 m^7G_3 OMe p p p U₂ OMe p A、 m^7G_3 OMe p p p U₂ OMe p C、 m^7G_3 OMe p p p U₂ OMe p G、及び m^7G_3 OMe p p p U₂ OMe p Uから選択される配列を含む。

【0172】

いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 m^7G_3 OMe p p p A₂ OMe p Aを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 m^7G_3 OMe p p p A₂ OMe p Cを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 m^7G_3 OMe p p p A₂ OMe p Gを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 m^7G_3 OMe p p p A₂ OMe p Uを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 m^7G_3 OMe p p p C₂ OMe p Aを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 m^7G_3 OMe p p p C₂ OMe p Cを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 m^7G_3 OMe p p p C₂ OMe p Gを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 m^7G_3 OMe p p p C₂ OMe p Uを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 m^7G_3 OMe p p p G₂ OMe p Aを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 m^7G_3 OMe p p p G₂ OMe p Cを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 m^7G_3 OMe p p p G₂ OMe p Gを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 m^7G_3 OMe p p p G₂ OMe p Uを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 m^7G_3 OMe p p p U₂ OMe p Aを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 m^7G_3 OMe p p p U₂ OMe p Cを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 m^7G_3 OMe p p p U₂ OMe p Gを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 m^7G_3 OMe p p p U₂ OMe p Uを含む。

【0173】

トリヌクレオチドキャップは、さらにいくつかの実施形態では、以下の配列： m^7G p p p A₂ OMe p A、 m^7G p p p A₂ OMe p C、 m^7G p p p A₂ OMe p G、 m^7G p p p A₂ OMe p U、 m^7G p p p C₂ OMe p A、 m^7G p p p C₂ OMe p C、 m^7G p p p C₂ OMe p G、 m^7G p p p C₂ OMe p U、 m^7G p p p G₂ OMe p A、 m^7G p p p G₂ OMe p C、 m^7G p p p G₂ OMe p G、 m^7G p p p G₂ OMe p U、 m^7G p p p U₂ OMe p A、 m^7G p p p U₂ OMe p C、 m^7G p p p U₂ OMe p G、及び m^7G p p p U₂ OMe p Uから選択される配列を含む。

【0174】

いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 m^7G p p p A₂ OMe p Aを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 m^7G p p p A₂ OMe p Cを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 m^7G p p p A₂ OMe p Gを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 m^7G p p p A₂ OMe p Uを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 m^7G p p p C₂ OMe p Aを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 m^7G p p p C₂ OMe p Cを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 m^7G p p p C₂ OMe p Gを含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 m^7G p p p C₂ OMe p Uを含む。いくつかの実施形態では、トリヌク

レオチドキャップは、 $m^7GpppG_2\text{ OMe p A}$ を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 $m^7GpppG_2\text{ OMe p C}$ を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 $m^7GpppG_2\text{ OMe p G}$ を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 $m^7GpppG_2\text{ OMe p U}$ を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 $m^7GpppU_2\text{ OMe p A}$ を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 $m^7GpppU_2\text{ OMe p C}$ を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 $m^7GpppU_2\text{ OMe p G}$ を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 $m^7GpppU_2\text{ OMe p U}$ を含む。

【0175】

いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 GAG を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 GCG を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 GUG を含む。いくつかの実施形態では、トリヌクレオチドキャップは、 GGG を含む。

【0176】

インビトロ転写方法

本開示のいくつかの態様は、RNA転写物の生成をもたらす条件下で、DNA鋳型をRNAポリメラーゼ（例えば、T7 RNAポリメラーゼバリエーションなどのT7 RNAポリメラーゼ）と接触させることを含む、RNA転写物（例えば、mRNA転写物）を生成（合成）する方法を提供する。

【0177】

いくつかの実施形態では、本方法は、RNA転写物の生成をもたらす条件下で、DNA鋳型を、S43A置換を有するT7 RNAポリメラーゼ（例えば、配列番号1、99、または100）バリエーション（例えば、S43A T7 RNAPバリエーションまたはS43A* T7 RNAPバリエーション）と接触させることを含む。他の実施形態では、本方法は、RNA転写物の生成をもたらす条件下で、DNA鋳型を、G47A置換を有するT7 RNAポリメラーゼ（例えば、配列番号1、99、または100）バリエーション（例えば、G47A T7 RNAPバリエーションまたはG47A* T7 RNAPバリエーション）と接触させることを含む。さらに他の実施形態では、本方法は、RNA転写物の生成をもたらす条件下で、DNA鋳型を、R257A置換を有するT7 RNAポリメラーゼ（例えば、配列番号1、99、または100）バリエーション（例えば、R257A T7 RNAPバリエーションまたはR257A* T7 RNAPバリエーション）と接触させることを含む。さらに他の実施形態では、本方法は、RNA転写物の生成をもたらす条件下で、DNA鋳型を、G259A置換を有するT7 RNAポリメラーゼ（例えば、配列番号1、99、または100）バリエーション（例えば、G259A T7 RNAPバリエーションまたはG259A* T7 RNAPバリエーション）と接触させることを含む。

【0178】

いくつかの実施形態では、本方法は、DNA鋳型を（少なくとも1つの）追加のC末端アミノ酸（例えば、Gly、Ala、GlyGly、AlaAla、GlyAla、またはAlaGly）を含むT7 RNAポリメラーゼバリエーションと接触させることを含む。

【0179】

いくつかの実施形態では、本方法は、DNA鋳型を、E42R、S43A、S43E、S43L、S43R、E45R、E45L、M46A、G47A、G47E、G47L、G47R、N165W、E167M、E167N、E168I、E168T、E168V、A181F、A181W、G184M、E187F、A255Q、A255K、A255I、A255Y、R257A、R257E、R257L、R257W、G259A、G259E、G259L、G259R、A260W、またはA260R置換、または前述の置換のうちの2つ以上及び任意選択による追加のC末端アミノ酸（例えば、Gly、Ala、GlyGly、AlaAla、GlyAla、またはAlaGly）の任意の組み合わせを含むT7 RNAポリメラーゼバリエーションと接触させることを含む。

10

20

30

40

50

【0180】

いくつかの態様では、本開示は、RNA転写物の生成をもたらす条件下で、ヌクレオシド三リン酸及び緩衝液の存在下において、DNA鋳型をRNAポリメラーゼ（例えば、T7 RNAポリメラーゼバリエーションなどのT7 RNAポリメラーゼ）と接触させることを含む、IVT反応を行う方法を提供する。

【0181】

本開示の他の態様は、インピトロ転写物を生成するための条件下で、ポリヌクレオチド鋳型をT7 RNAポリメラーゼバリエーション、ヌクレオシド三リン酸、及びキャップ類似体と反応させてRNA転写物を生成することを含む、共転写キャッピング方法を提供する。

【0182】

いくつかの実施形態では、RNA合成のための共転写キャッピング方法は、RNA転写物を生成するためのインピトロ転写反応条件下で、ポリヌクレオチド鋳型を（a）T7 RNAポリメラーゼバリエーションであって、野生型RNAポリメラーゼと比較して、該RNAポリメラーゼバリエーションが開始複合体から伸長複合体に移行するにつれてRNAポリメラーゼバリエーションの少なくとも1つのループ構造にヘリックス構造へのコンフォメーション変化を受けさせる少なくとも1つのアミノ酸置換を含む、該T7 RNAポリメラーゼバリエーション、（b）ヌクレオシド三リン酸、及び（c）配列GpppA₂omepGを含むトリヌクレオチドキャップと反応させることを含み、ポリヌクレオチド鋳型が、鋳型位置+1に2'-デオキシチミジン残基を含む。

【0183】

IVT条件は、典型的には、プロモーター、ヌクレオシド三リン酸、ジチオトレイトール（DTT）及びマグネシウムイオンを含む緩衝系、ならびにRNAポリメラーゼを含む精製した線形DNA鋳型を必要とする。転写反応で使用する正確な条件は、特定の用途に必要なRNAの量に依拠する。典型的なIVT反応は、転写緩衝液中でDNA鋳型をRNAポリメラーゼ及びGTP、ATP、CTP、UTP（またはヌクレオチド類似体）を含むヌクレオシド三リン酸とともにインキュベートすることにより行われる。5'末端グアノシン三リン酸を有するRNA転写物は、この反応から生成される。

【0184】

デオキシリボ核酸（DNA）は、単にRNAポリメラーゼの核酸鋳型である。DNA鋳型は、目的のポリペプチド（例えば、抗原性ポリペプチド）をコードするポリヌクレオチドを含み得る。DNA鋳型は、いくつかの実施形態では、目的のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドから5'に位置し、該ポリヌクレオチドに機能的に連結されたRNAポリメラーゼプロモーター（例えば、T7 RNAポリメラーゼプロモーター）を含む。DNA鋳型は、目的の遺伝子の3'末端に位置するポリアデニル化（ポリA）テールをコードするヌクレオチド配列も含み得る。

【0185】

目的のポリペプチドには、生物製剤、抗体、抗原（ワクチン）、及び治療用タンパク質が含まれるが、これらに限定されない。「タンパク質」という用語には、ペプチドが含まれる。

【0186】

RNA転写物は、いくつかの実施形態では、IVT反応の産物である。RNA転写物は、いくつかの実施形態では、ポリA尾部に連結された目的のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むメッセンジャーRNA（mRNA）である。いくつかの実施形態では、mRNAは、少なくとも1つの修飾ヌクレオチドを含む修飾されたmRNA（mmRNA）である。

【0187】

ヌクレオチドは、窒素塩基、五炭糖（リボースまたはデオキシリボース）、及び少なくとも1つのリン酸基を含む。ヌクレオチドには、ヌクレオシドリン酸、ヌクレオシド二リン酸、及びヌクレオシド三リン酸が含まれる。ヌクレオシドリン酸（NMP）には、リボースに結合した核酸塩基及び1つのリン酸が含まれる。ヌクレオシド二リン酸（ND

10

20

30

40

50

P)には、リボースに結合した核酸塩基及び2つのリン酸が含まれる。ヌクレオシド三リン酸(NTP)には、リボースに結合した核酸塩基及び3つのリン酸が含まれる。ヌクレオチド類似体は、ヌクレオチドの一般構造を有するか、またはヌクレオチドに構造的に類似した化合物である。ヌクレオチド類似体には、例えば、核酸塩基の類似体、糖の類似体、及び/またはヌクレオチドのリン酸基(複数可)の類似体が含まれる。

【0188】

ヌクレオシドは、窒素塩基及び五炭糖を含む。したがって、ヌクレオシドとリン酸基とにより、ヌクレオチドとなる。ヌクレオシド類似体は、ヌクレオシドの一般構造を有するか、またはヌクレオシドに構造的に類似した化合物である。例えば、ヌクレオシド類似体には、核酸塩基の類似体及び/またはヌクレオシドの糖の類似体が含まれる。

10

【0189】

「ヌクレオチド」という用語には、別段で明記しない限り、天然に存在するヌクレオチド、合成ヌクレオチド、及び修飾ヌクレオチドが含まれることを理解されたい。本明細書で提供される、例えばIVT反応においてRNAの生成に使用される天然に存在するヌクレオチドの例には、アデノシン三リン酸(ATP)、グアノシン三リン酸(GTP)、シチジン三リン酸(CTP)、ウリジン三リン酸(UTP)、及び5-メチルウリジン三リン酸(m^5 UTP)が含まれる。いくつかの実施形態では、アデノシン二リン酸(ADP)、グアノシン二リン酸(GDP)、シチジン二リン酸(CDP)、及び/またはウリジン二リン酸(UDP)が使用される。

【0190】

20

ヌクレオチド類似体の例には、抗ウイルスヌクレオチド類似体、リン酸類似体(可溶性または固定化(immobilized)、加水分解性または非加水分解性)、ジヌクレオチド、トリヌクレオチド、テトラヌクレオチド、例えば、キャップ類似体、または酵素キャッピングの前駆体/基質(ワクシニアまたはリガーゼ)、キャップもしくは5'部分(IRES)のライゲーション/コンジュゲーションを促進するための官能基で標識されたヌクレオチド、キャップもしくは5'部分のライゲーションを促進するための5'PO₄で標識されたヌクレオチド、または化学的もしくは酵素的に切断することができる官能基/保護基で標識されたヌクレオチドが含まれるが、これらに限定されない。抗ウイルスヌクレオチド/ヌクレオシド類似体の例には、ガンシクロビル、エンテカビル、テルビブジン、ビダラビン、及びシドフォビルが含まれるが、これらに限定されない。

30

【0191】

修飾ヌクレオチドは、修飾核酸塩基を含み得る。例えば、本開示のRNA転写物(例えば、mRNA転写物)は、シュードウリジン()、1-メチルシュードウリジン(m^1)、1-エチルシュードウリジン、2-チオウリジン、4'-チオウリジン、2-チオ-1-メチル-1-デアザ-シュードウリジン、2-チオ-1-メチル-シュードウリジン、2-チオ-5-アザ-ウリジン、2-チオ-ジヒドロシュードウリジン、2-チオ-ジヒドロウリジン、2-チオ-シュードウリジン、4-メトキシ-2-チオ-シュードウリジン、4-メトキシ-シュードウリジン、4-チオ-1-メチル-シュードウリジン、4-チオ-シュードウリジン、5-アザ-ウリジン、ジヒドロシュードウリジン、5-メチルウリジン、5-メトキシウリジン(m^5 U)、及び2'-O-メチルウリジンから選択される修飾核酸塩基を含み得る。いくつかの実施形態では、RNA転写物(例えば、mRNA転写物)には、前述の修飾核酸塩基のうちの少なくとも2つ(例えば、2、3、4つまたはそれ以上)の組み合わせが含まれる。

40

【0192】

本明細書で提供されるヌクレオシド三リン酸(NTP)は、非修飾もしくは修飾ATP、修飾もしくは非修飾UTP、修飾もしくは非修飾GTP、及び/または修飾もしくは非修飾CTPを含み得る。いくつかの実施形態では、IVT反応のNTPは、非修飾ATPを含む。いくつかの実施形態では、IVT反応のNTPは、修飾ATPを含む。いくつかの実施形態では、IVT反応のNTPは、非修飾UTPを含む。いくつかの実施形態では、IVT反応のNTPは、修飾UTPを含む。いくつかの実施形態では、IVT反応のN

50

ＴＰは、非修飾ＧＴＰを含む。いくつかの実施形態では、ＩＶＴ反応のＮＴＰは、修飾ＧＴＰを含む。いくつかの実施形態では、ＩＶＴ反応のＮＴＰは、非修飾ＣＴＰを含む。いくつかの実施形態では、ＩＶＴ反応のＮＴＰは、修飾ＣＴＰを含む。

【０１９３】

ＩＶＴ反応において存在するヌクレオシド三リン酸及びキャップ類似体の濃度は変動し得る。いくつかの実施形態では、ＮＴＰ及びキャップ類似体は、反応において等モル濃度で存在する。いくつかの実施形態では、反応におけるキャップ類似体（例えば、トリヌクレオチドキャップ）とヌクレオシド三リン酸とのモル比は、１：１より大きい。例えば、反応におけるキャップ類似体とヌクレオシド三リン酸とのモル比は、２：１、３：１、４：１、５：１、６：１、７：１、８：１、９：１、１０：１、１５：１、２０：１、２５：１、５０：１、または１００：１であり得る。いくつかの実施形態では、反応におけるキャップ類似体（例えば、トリヌクレオチドキャップ）とヌクレオシド三リン酸とのモル比は、１：１未満である。例えば、反応におけるキャップ類似体（例えば、トリヌクレオチドキャップ）とヌクレオシド三リン酸とのモル比は、１：２、１：３、１：４、１：５、１：６、１：７、１：８、１：９、１：１０、１：１５、１：２０、１：２５、１：５０、または１：１００であり得る。

10

【０１９４】

ＩＶＴ反応におけるＮＴＰの組成も変化し得る。例えば、ＡＴＰは、ＧＴＰ、ＣＴＰ、及びＵＴＰより超過して使用され得る。非限定的な例として、ＩＶＴ反応には、７．５ミリのＧＴＰ、７．５ミリのＣＴＰ、７．５ミリのＵＴＰ、及び３．７５ミリのＡＴＰが含まれ得る。同じＩＶＴ反応には、３．７５ミリのキャップ類似体（例えば、トリヌクレオチドキャップ）が含まれ得る。いくつかの実施形態では、Ｇ：Ｃ：Ｕ：Ａ：キャップのモル比は、１：１：１：０．５：０．５である。いくつかの実施形態では、Ｇ：Ｃ：Ｕ：Ａ：キャップのモル比は、１：１：０．５：１：０．５である。いくつかの実施形態では、Ｇ：Ｃ：Ｕ：Ａ：キャップのモル比は、１：０．５：１：１：０．５である。いくつかの実施形態では、Ｇ：Ｃ：Ｕ：Ａ：キャップのモル比は、０．５：１：１：１：０．５である。

20

【０１９５】

いくつかの実施形態では、ＲＮＡ転写物（例えば、ｍＲＮＡ転写物）には、シュードウリジン（ m^1 ）、１－メチルシュードウリジン（ m^1 ）、５－メトキシウリジン（ mo^5U ）、５－メチルシチジン（ m^5C ）、 γ -チオグアノシン、及び γ -チオアデノシンから選択される修飾核酸塩基が含まれる。いくつかの実施形態では、ＲＮＡ転写物（例えば、ｍＲＮＡ転写物）には、前述の修飾核酸塩基のうちの少なくとも２つ（例えば、２、３、４つまたはそれ以上）の組み合わせが含まれる。

30

【０１９６】

いくつかの実施形態では、ＲＮＡ転写物（例えば、ｍＲＮＡ転写物）には、シュードウリジン（ m^1 ）が含まれる。いくつかの実施形態では、ＲＮＡ転写物（例えば、ｍＲＮＡ転写物）には、１－メチルシュードウリジン（ m^1 ）が含まれる。いくつかの実施形態では、ＲＮＡ転写物（例えば、ｍＲＮＡ転写物）には、５－メトキシウリジン（ mo^5U ）が含まれる。いくつかの実施形態では、ＲＮＡ転写物（例えば、ｍＲＮＡ転写物）には、５－メチルシチジン（ m^5C ）が含まれる。いくつかの実施形態では、ＲＮＡ転写物（例えば、ｍＲＮＡ転写物）には、 γ -チオ-グアノシンが含まれる。いくつかの実施形態では、ＲＮＡ転写物（例えば、ｍＲＮＡ転写物）には、 γ -チオ-アデノシンが含まれる。

40

【０１９７】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチド（例えば、ｍＲＮＡポリヌクレオチドなどのＲＮＡポリヌクレオチド）は、特定の修飾のために均一に修飾される（例えば、完全に修飾される、配列全体にわたって修飾される）。例えば、ポリヌクレオチドを１－メチルシュードウリジン（ m^1 ）で均一に修飾することができ、このことは、ｍＲＮＡ配列中のすべてのウリジン残基が１－メチルシュードウリジン（ m^1 ）で置換されることを意味する。同様に、ポリヌクレオチドは、上記のもののうちのいずれかなどの修飾残基での

50

置換により、配列中に存在する任意の種類のアヌクレオシド残基について均一に修飾することができる。あるいは、ポリヌクレオチド（例えば、mRNAポリヌクレオチドなどのRNAポリヌクレオチド）は、均一に修飾されていなくてもよい（例えば、部分的に修飾され、配列の一部が修飾されている）。各々の選択肢は、本発明の別々の実施形態を表す。

【0198】

いくつかの実施形態では、緩衝系は、トリス（tris）を含む。例えば、IVT反応で使用されるトリスの濃度は、少なくとも10 mM、少なくとも20 mM、少なくとも30 mM、少なくとも40 mM、少なくとも50 mM、少なくとも60 mM、少なくとも70 mM、少なくとも80 mM、少なくとも90 mM、少なくとも100 mM、または少なくとも110 mMのリン酸塩である。いくつかの実施形態では、リン酸塩の濃度は、20 ~ 60 mMまたは10 ~ 100 mMである。

10

【0199】

いくつかの実施形態では、緩衝系は、ジチオトレイトール（DTT）を含む。IVT反応で使用されるDTTの濃度は、例えば、少なくとも1 mM、少なくとも5 mM、または少なくとも50 mMであり得る。いくつかの実施形態では、IVT反応で使用されるDTTの濃度は、1 ~ 50 mMまたは5 ~ 50 mMである。いくつかの実施形態では、IVT反応で使用されるDTTの濃度は、5 mMである。

【0200】

いくつかの実施形態では、緩衝系は、マグネシウムを含む。いくつかの実施形態では、IVT反応において存在するNTPとマグネシウムイオン（ Mg^{2+} ；例えば $MgCl_2$ ）とのモル比は、1 : 1 ~ 1 : 5である。例えば、NTPとマグネシウムイオンとのモル比は、1 : 1、1 : 2、1 : 3、1 : 4、または1 : 5であり得る。

20

【0201】

いくつかの実施形態では、IVT反応において存在するNTP及びキャップ類似体（例えば、GAGなどのトリヌクレオチドキャップ）とマグネシウムイオン（ Mg^{2+} ；例えば $MgCl_2$ ）とのモル比は、1 : 1 ~ 1 : 5である。例えば、NTP + トリヌクレオチドキャップ（例えば、GAG）とマグネシウムイオンとのモル比は、1 : 1、1 : 2、1 : 3、1 : 4、または1 : 5であり得る。

【0202】

いくつかの実施形態では、緩衝系は、Tris-HCl、スぺルミジン（例えば、1 ~ 30 mMの濃度）、TRITON（登録商標）X-100（ポリエチレングリコールp-(1, 1, 3, 3-テトラメチルブチル)-フェニルエーテル）、及び/またはポリエチレングリコール（PEG）を含む。

30

【0203】

成長中のRNA鎖の3'末端へのヌクレオシド三リン酸（NTP）の付加は、T7 RNAポリメラーゼなどのポリメラーゼ、例えば、本開示のT7 RNAポリメラーゼバリエーションのいずれか1つ以上（例えば、S43A及び/またはG47A）によって触媒される。いくつかの実施形態では、RNAポリメラーゼ（例えば、T7 RNAポリメラーゼバリエーション）は、0.01 mg/mL ~ 1 mg/mLの濃度で反応（例えば、IVT反応）において存在する。例えば、RNAポリメラーゼは、0.01 mg/mL、0.05 mg/mL、0.1 mg/mL、0.5 mg/mL、または1.0 mg/mLの濃度で反応において存在し得る。

40

【0204】

驚くべきことに、例えば、インビトロ転写反応において、本明細書で提供されるT7 RNAPバリエーション（例えば、E42、S43、Y44、E45、M46、G47、A255、R257、またはG259、例えばS43AまたはG47A）とキャップ類似体（例えば、GpppA₂omepG）とを組み合わせると、RNA転写物が生成され、生成されたRNA転写物の80%超が機能性キャップを含む。いくつかの実施形態では、生成されたRNA転写物の85%超が機能性キャップを含む。いくつかの実施形態では、生成されたRNA転写物の90%超が機能性キャップを含む。いくつかの実施形態で

50

は、生成されたRNA転写物の95%超が機能性キャップを含む。いくつかの実施形態では、生成されたRNA転写物の96%超が機能性キャップを含む。いくつかの実施形態では、生成されたRNA転写物の97%超が機能性キャップを含む。いくつかの実施形態では、生成されたRNA転写物の98%超が機能性キャップを含む。いくつかの実施形態では、生成されたRNA転写物の99%超が機能性キャップを含む。

【0205】

また、鋳型位置+1に2'-デオキシチミジン残基または2'-デオキシシチジン残基を含むポリヌクレオチド鋳型を使用すると、RNA転写物が生成され、生成されたRNA転写物の80%超（例えば、85%超、90%超、または95%超）が機能性キャップを含むことが見出されたことは驚くべきことであった。したがって、いくつかの実施形態では、例えばIVT反応で使用されるポリヌクレオチド（例えばDNA）鋳型は、鋳型位置+1に2'-デオキシチミジン残基を含む。他の実施形態では、例えばIVT反応で使用されるポリヌクレオチド（例えばDNA）鋳型は、鋳型位置+1に2'-デオキシシチジン残基を含む。

10

【0206】

用途

本開示に従って生成されたRNA転写物には、mRNA（修飾mRNA及び/または非修飾RNAを含む）、lncRNA、自己複製RNA、環状RNA、CRISPRガイドRNAなどが含まれる。実施形態では、RNAは、ポリペプチド（例えば、治療用ポリペプチド）をコードするRNA（例えばmRNAまたは自己複製RNA）である。したがって、本開示のRNAポリメラーゼバリエーションを使用して生成されたRNA転写物は、非常に多くの用途で使用され得る。

20

【0207】

例えば、RNA転写物は、目的のポリペプチド、例えば治療用タンパク質、ワクチン抗原などを生成するために使用され得る。いくつかの実施形態では、RNA転写物は、治療用RNAである。治療用mRNAは、治療用タンパク質をコードするmRNAである（「タンパク質」という用語には、ペプチドが含まれる）。治療用タンパク質は、宿主細胞または対象における様々な効果を媒介して、疾患を治療し、または疾患の徴候及び症状を改善する。例えば、治療用タンパク質は、欠損または異常なタンパク質を置換し、内因性タンパク質の機能を増強し、細胞に新規機能を提供する（例えば、内因性細胞活性を阻害もしくは活性化し、または別の治療用化合物（例えば、抗体-抗体コンジュゲートなど）のための送達剤として作用する）。治療用mRNAは、以下の疾患及び状態：細菌感染症、ウイルス感染症、寄生虫感染症、細胞増殖障害、遺伝障害、及び自己免疫障害の治療に有用であり得る。他の疾患及び状態が本明細書において包含される。

30

【0208】

本明細書で提供されるmRNAによってコードされる目的のタンパク質は、本質的に任意のタンパク質であり得る。いくつかの実施形態では、治療用タンパク質は、サイトカイン、成長因子、抗体、または融合タンパク質である。治療用タンパク質の非限定的な例には、血液因子（VII因子及びVIII因子など）、補体因子、低密度リポタンパク質受容体（LDLR）、及びMUT1が含まれる。サイトカインの非限定的な例には、インターロイキン、インターフェロン、ケモカイン、リンホカインなどが含まれる。成長因子の非限定的な例には、エリスロポエチン、EGF、PDGF、FGF、TGF、IGF、TNF、CSF、MCSF、GMCSFなどが含まれる。抗体の非限定的な例には、アダリムマブ、インフリキシマブ、リツキシマブ、イビリムマブ、トシリズマブ、カナキヌマブ、イトリズマブ、トラロキヌマブが含まれる。融合タンパク質の非限定的な例には、例えば、エタネルセプト、アバタセプト、及びベラタセプトが含まれる。

40

【0209】

いくつかの実施形態では、目的のタンパク質は、ヒトエリスロポエチン、LDLR（コレステロールの阻害に使用）、またはMUT1（メチルマロン酸血症（MMA）の治療に使用）である。他の実施形態では、mRNAによってコードされる目的のタンパク質は、

50

治療抗体であり、上記抗体を含むがこれらに限定されない。

【0210】

本明細書に開示されるRNAポリメラーゼバリエーションを使用して生成されたRNA転写物は、1つ以上の生物製剤をコードし得る。生物製剤は、重篤なもしくは生命を脅かす疾患または状態の治療、治癒、緩和、予防、または診断に使用され得るポリペプチドベースの分子である。生物学には、特に、アレルゲン抽出物（例えば、アレルギー注射（shot）及び検査用）、血液成分、遺伝子治療製品、移植に使用されるヒト組織または細胞製品、ワクチン、モノクローナル抗体、サイトカイン、成長因子、酵素、血栓溶解剤、及び免疫調整剤が含まれるが、これらに限定されない。

【0211】

現在市販されているまたは開発中の1つ以上の生物製剤は、本発明のRNAによってコードされ得る。理論に拘束されることを望まないが、既知の生物製剤のコード化ポリヌクレオチドを本開示のRNAに組み込むと、構築設計物の特異性、純度、及び/または選択性に少なくとも部分的に起因して、治療効果の改善がもたらされると考えられる。

【0212】

本明細書に開示されるRNAポリメラーゼバリエーションを使用して生成されたRNA転写物は、1つ以上の抗体をコードし得る。「抗体」という用語には、モノクローナル抗体（免疫グロブリンFc領域を有する全長抗体を含む）、ポリエピトープ特異性を有する抗体組成物、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体、ダイアボディ、及び単鎖分子）、及び抗体断片が含まれる。「免疫グロブリン」（Ig）という用語は、本明細書において「抗体」と互換的に使用される。モノクローナル抗体は、実質的に均一な抗体の集団から得られた抗体である。すなわち、集団を構成する個々の抗体は、わずかな量で存在し得る起こり得る天然に存在する変異及び/または翻訳後修飾（例えば、異性化、アミド化）を除いて同一である。モノクローナル抗体は非常に特異的であり、単一の抗原部位に対するものである。

【0213】

モノクローナル抗体には、具体的には、重鎖及び/または軽鎖の一部が、特定の種に由来するか、または特定の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体の対応する配列と同一または相同であり、鎖（複数可）の残りが、別の抗体に由来するか、または別の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体の対応する配列と同一または相同である、キメラ抗体（免疫グロブリン）、及び所望の生物学的活性を示す限り、そのような抗体の断片が含まれる。キメラ抗体には、非ヒト霊長類（例えば、旧世界猿、類人猿など）及びヒト定常領域配列に由来する可変ドメイン抗原結合配列を含む「霊長類化（primateized）」抗体が含まれるが、これらに限定されない。

【0214】

本開示のRNAにコードされる抗体は、血液、心臓血管、CNS、中毒（抗毒素を含む）、皮膚病学、内分泌学、胃腸、医用画像、筋骨格、腫瘍学、免疫学、呼吸器、感覚、及び抗感染症などの多くの治療分野における状態または疾患を治療するために利用され得る。

【0215】

本明細書に開示されるRNAポリメラーゼバリエーションを使用して生成されたRNA転写物は、1つ以上のワクチン抗原をコードし得る。ワクチン抗原は、特定の疾患または感染因子に対する免疫を改善する生物学的製剤である。現在市販されているまたは開発中の1つ以上のワクチン抗原は、本開示のRNAによってコードされ得る。RNAにコードされたワクチン抗原は、がん、アレルギー、感染症などの多くの治療分野における状態または疾患を治療するために利用され得る。いくつかの実施形態では、がんワクチンは、コンカテマーまたはペプチドエピトープをコードする個々のRNAまたはそれらの組み合わせの形態の個別化されたがんワクチンであり得る。

【0216】

本明細書に開示されるRNAポリメラーゼバリエーションを使用して生成されたRNA転写物は、1つ以上の抗菌ペプチド（AMP）または抗ウイルスペプチド（AVP）をコード

10

20

30

40

50

するように設計され得る。AMP及びAVPは、限定するものではないが、微生物、無脊椎動物、植物、両生類、鳥類、魚類、及び哺乳類などの広範囲の動物から単離及び記述されている。抗菌ポリペプチドは、細胞融合及び/または1つ以上のエンベロウイルス(例えば、HIV、HCV)によるウイルス侵入を遮断し得る。例えば、抗菌ポリペプチドは、領域、例えば、ウイルスエンベロープタンパク質、例えばHIV-1 gp120またはgp41の膜貫通サブユニットの少なくとも約5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、または60個のアミノ酸の連続配列に対応する合成ペプチドを含むか、またはそれからなることができる。HIV-1 gp120またはgp41のアミノ酸及びヌクレオチド配列は、例えば、Kuiken et al., (2008)「HIV Sequence Compendium」, Los Alamos National Laboratoryに記載されている。

10

【0217】

いくつかの実施形態では、RNA転写物は、放射標識RNAプローブとして使用される。いくつかの実施形態では、RNA転写物は、非同位体RNA標識のために使用される。いくつかの実施形態では、RNA転写物は、遺伝子ターゲティングのためのガイドRNA(gRNA)として使用される。いくつかの実施形態では、RNA転写物(例えば、mRNA)は、インビトロ翻訳及び微量注入に使用される。いくつかの実施形態では、RNA転写物は、RNA構造、プロセッシング、及び触媒研究に使用される。いくつかの実施形態では、RNA転写物は、RNA増幅に使用される。いくつかの実施形態では、RNA転写物は、遺伝子発現実験のためのアンチセンスRNAとして使用される。他の用途が本開示に包含される。

20

【0218】

組成物

本開示のT7 RNAPバリエーションは、いくつかの実施形態では、IVT反応においてトリヌクレオチドキャップなどのキャップ類似体と組み合わせて使用されるとき、IVT後の精製がなくても、検出可能なサイトカイン応答を誘導しないRNAを生成する。したがって、いくつかの実施形態では、IVT RNA及び薬学的に許容される賦形剤を含む組成物であって、IVT後の精製なしで、サイトカイン誘導RNA混入物を実質的に含まない(例えば、含まないか、または10%未満、1%未満、0.1%未満、または0.01%未満含む)、該組成物が本明細書で提供される。

30

【0219】

本明細書の他の箇所で説明するように、本開示のT7 RNAPバリエーション及び本開示の方法はRNA転写物を生成し、該転写物の少なくとも80%(例えば、80%~90%、80~95%、90~95%、80~99%、90~99%、または90~100%)は機能的なキャップを含む。したがって、IVT RNA及び薬学的に許容される賦形剤を含む組成物も本明細書で提供され、組成物は、20%(例えば、5~15%、5~10%、1~15%、または1~10%)未満のキャップされていないRNA種を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、15%(例えば、5~10%、1~10%、または1~5%)未満のキャップされていないRNA種を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、10%未満のキャップされていないRNA種を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、5%未満のキャップされていないRNA種を含む。

40

【0220】

いくつかの実施形態では、IVT RNAの80%超が機能性キャップを含む。いくつかの実施形態では、IVT RNAの85%超が機能性キャップを含む。いくつかの実施形態では、IVT RNAの90%超が機能性キャップを含む。いくつかの実施形態では、IVT RNAの95%超が機能性キャップを含む。

【0221】

いくつかの実施形態では、IVT RNAは化学修飾されていないが、他の実施形態では、IVT RNAは化学修飾されている。

【0222】

50

いくつかの実施形態では、予想外に、I V T RNAの80%超が一本鎖完全長転写物を含む。例えば、I V T RNAの85%超が一本鎖完全長転写物を含み得る。いくつかの実施形態では、I V T RNAの90%超が一本鎖完全長転写物を含み、I V T RNAの95%超が一本鎖完全長転写物を含む。

【0223】

いくつかの実施形態では、RNAは、RNA転写物を生成するためのインビトロ転写反応条件下で、ポリヌクレオチド鋳型を(a) T7 RNAポリメラーゼバリエーションであって、野生型RNAポリメラーゼと比較して、該RNAポリメラーゼバリエーションが開始複合体から伸長複合体に移行するにつれてRNAポリメラーゼバリエーションの少なくとも1つのループ構造にヘリックス構造へのコンフォメーション変化を受けさせる少なくとも1つのアミノ酸置換を含む、該T7 RNAポリメラーゼバリエーション、(b) ヌクレオシド三リン酸、及び(c) 配列G p p p A₂ O m e p Gを含むトリヌクレオチドキャップと反応させることを含む方法によって生成され、ポリヌクレオチド鋳型は、鋳型位置+1に2'-デオキシチミジン残基を含む。

【0224】

キット

本開示のRNAポリメラーゼバリエーションを含むインビトロ転写キットなどのキットも本明細書で提供される。キットは、本明細書に記載の任意の1つ以上(少なくとも1つ)のI V T成分及び任意の1つ以上(少なくとも1つ)のRNAポリメラーゼバリエーションを含み得る。例えば、キットは、緩衝系、NTP、及び位置E42、S43、Y44、E45、M46、G47、A255、R257、A258、G259、A260、L261及び/またはA262における少なくとも1つ(もしくは少なくとも2つ、または少なくとも3つ)のアミノ酸置換ならびに任意選択によりC末端において少なくとも1つのアミノ酸付加を有する配列番号1、99、または100のアミノ酸配列を有するT7 RNAポリメラーゼバリエーションを含み得る。

【0225】

追加の実施形態

本開示の追加の実施形態には、以下の番号の段落のものが包含される：

段落1．リボ核酸(RNA)ポリメラーゼバリエーションであって、野生型RNAポリメラーゼと比較して、前記RNAポリメラーゼバリエーションが開始複合体から伸長複合体に移行するにつれて前記RNAポリメラーゼバリエーションの少なくとも1つのループ構造にヘリックス構造へのコンフォメーション変化を受けさせる少なくとも1つのアミノ酸置換を含む、前記リボ核酸(RNA)ポリメラーゼバリエーション。

【0226】

段落2．前記少なくとも1つのアミノ酸置換が、野生型アミノ酸と比較して高いヘリックス性向を有する、段落1に記載のRNAポリメラーゼバリエーション。

【0227】

段落3．前記RNAポリメラーゼが、T7 RNAポリメラーゼである、段落1または2に記載のRNAポリメラーゼバリエーション。

【0228】

段落4．前記少なくとも1つのループ構造が、Cヘリックス構造中にある、段落1～3のいずれか1つに記載のRNAポリメラーゼバリエーション。

【0229】

段落5．前記少なくとも1つのループ構造が、Cリンカー構造中にある、段落1～4のいずれか1つに記載のRNAポリメラーゼバリエーション。

【0230】

段落6．前記少なくとも1つのアミノ酸置換が、少なくとも1つの高ヘリックス性向アミノ酸置換である、段落1～4のいずれか1つに記載のRNAポリメラーゼバリエーション。

【0231】

段落7．前記少なくとも1つの高ヘリックス性向酸置換が、アラニン、イソロイシン、

ロイシン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び/またはグルタミン酸から選択される、段落 6 に記載の RNA ポリメラーゼバリエント。

【 0 2 3 2 】

段落 8 . 前記少なくとも 1 つの高ヘリックス性向アミノ酸置換が、アラニンである、段落 7 に記載の RNA ポリメラーゼバリエント。

【 0 2 3 3 】

段落 9 . 前記 T 7 RNA ポリメラーゼが、E 4 2、S 4 3、Y 4 4、E 4 5、M 4 6、G 4 7、R 2 5 7、及び G 2 5 9 から選択される位置に高ヘリックス性向アミノ酸の少なくとも 1 つのアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号 1、配列番号 9 9、または配列番号 1 0 0 によって特定されるアミノ酸配列を含む、段落 4 ~ 8 のいずれか 1 つに記載の RNA ポリメラーゼバリエント。

10

【 0 2 3 4 】

段落 1 0 . 前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換が、S 4 3 A を含む、段落 9 に記載の RNA ポリメラーゼバリエント。

【 0 2 3 5 】

段落 1 1 . 前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換が、G 4 7 A を含む、段落 9 に記載の RNA ポリメラーゼバリエント。

【 0 2 3 6 】

段落 1 2 . 前記 T 7 RNA ポリメラーゼが、R 2 5 7、A 2 5 8、G 2 5 9、A 2 6 0、L 2 6 1 及び A 2 6 2 から選択される位置に高ヘリックス性向アミノ酸の少なくとも 1 つのアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号 1、配列番号 9 9、または配列番号 1 0 0 によって特定されるアミノ酸配列を含む、段落 5 ~ 8 のいずれか 1 つに記載の RNA ポリメラーゼバリエント。

20

【 0 2 3 7 】

段落 1 3 . 前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換が、R 2 5 7 A を含む、段落 1 2 に記載の RNA ポリメラーゼバリエント。

【 0 2 3 8 】

段落 1 4 . 前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換が、G 2 5 9 A を含む、段落 1 2 に記載の RNA ポリメラーゼバリエント。

【 0 2 3 9 】

段落 1 5 . G 4 7、S 4 3、R 2 5 7、または G 2 5 9 の位置における高ヘリックス性向アミノ酸のアミノ酸置換を含むように修飾された、配列番号 1、配列番号 9 9、または配列番号 1 0 0 によって特定されるアミノ酸配列を含む、T 7 リボ核酸 (RNA) ポリメラーゼ。

30

【 0 2 4 0 】

段落 1 6 . 前記高ヘリックス性向アミノ酸が、アラニン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、リジン、グルタミン、及び/またはグルタミン酸から選択される、段落 1 5 に記載の T 7 RNA ポリメラーゼ。

【 0 2 4 1 】

1 7 . 前記高ヘリックス性向アミノ酸が、アラニンである、段落 1 6 に記載の T 7 RNA ポリメラーゼ。

40

【 0 2 4 2 】

段落 1 8 . 配列番号 2、配列番号 1 0 7、または配列番号 1 0 8 によって特定されるアミノ酸配列を含む、T 7 RNA ポリメラーゼ。

【 0 2 4 3 】

段落 1 9 . 配列番号 3、配列番号 1 0 9、または配列番号 1 1 0 によって特定されるアミノ酸配列を含む、T 7 RNA ポリメラーゼ。

【 0 2 4 4 】

段落 2 0 . 配列番号 4、配列番号 1 1 1、または配列番号 1 1 2 によって特定されるアミノ酸配列を含む、T 7 RNA ポリメラーゼ。

50

【 0 2 4 5 】

段落 2 1 . 配列番号 5、配列番号 1 1 3、または配列番号 1 1 4 によって特定されるアミノ酸配列を含む、T 7 RNAポリメラーゼ。

【 0 2 4 6 】

段落 2 2 . RNA転写物の生成をもたらす条件下で、DNA鋳型を段落 1 ~ 2 1 のいずれか 1 つに記載のRNAポリメラーゼと接触させることを含む、リボ核酸 (RNA) を生成する方法。

【 0 2 4 7 】

段落 2 3 . ヌクレオシド三リン酸及び緩衝液の存在下において、RNA転写物の生成をもたらす条件下で、DNA鋳型を段落 1 ~ 2 1 のいずれか 1 つに記載のRNAポリメラーゼと接触させることを含む、インビトロ転写 (IVT) 反応を行う方法。

【 0 2 4 8 】

段落 2 4 . 前記生成されたRNA転写物が、任意選択により未精製形態で細胞に送達されたときに、野生型RNAポリメラーゼを使用して生成されたRNAと比較して少なくとも 5 0 % 低いサイトカイン応答を刺激する、段落 2 3 に記載の方法。

【 0 2 4 9 】

段落 2 5 . IVT により生成された前記二本鎖RNA転写物の濃度が、野生型ポリメラーゼを用いて生成されたdsRNA転写物と比較して少なくとも 5 0 % 低い、段落 2 3 ~ 2 4 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 2 5 0 】

段落 2 6 . 前記生成されたRNA転写物の 2 0 % 未満が、3 ´ 不均一性を示す、段落 2 3 ~ 2 5 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 2 5 1 】

段落 2 7 . 前記生成されたRNA転写物の 5 0 % 未満が、切断型RNA転写物である、段落 2 3 ~ 2 6 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 2 5 2 】

段落 2 8 . 前記生成されたRNA転写物の 5 0 % 未満が、ランオンRNA転写物である、段落 2 3 ~ 2 8 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 2 5 3 】

段落 2 9 . 前記生成された完全長RNA転写物の量が、前記DNA鋳型の量よりも少なくとも 1 5 倍多い、段落 2 3 ~ 2 8 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 2 5 4 】

段落 3 0 . 切断型RNA転写物：生成された完全長RNA転写物の比が、1 : 1 未満である、段落 2 3 ~ 2 9 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 2 5 5 】

段落 3 1 . 前記生成されたRNA転写物が、前記DNA鋳型と比較して 1 0 0 ヌクレオチドあたり 1 未満の変異を有する、段落 2 3 ~ 3 0 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 2 5 6 】

段落 3 2 . 段落 1 ~ 2 1 のいずれか 1 つに記載のRNAポリメラーゼをコードする核酸。

【 0 2 5 7 】

段落 3 3 . 段落 3 3 の核酸を含むベクター。

【 0 2 5 8 】

段落 3 4 . 段落 3 3 に記載の核酸または段落 3 4 に記載のベクターを含む宿主細胞。

【 0 2 5 9 】

段落 3 5 . 段落 1 ~ 2 1 のいずれか 1 つに記載のRNAポリメラーゼを含むキット。

【 0 2 6 0 】

段落 3 6 . 段落 1 ~ 2 1 のいずれか 1 つに記載のRNAポリメラーゼを含む組成物。

【 0 2 6 1 】

段落 3 7 . 段落 2 2 ~ 3 1 のいずれか 1 つに記載の方法で生成されたりボ核酸 (RNA) 。

10

20

30

40

50

【 0 2 6 2 】

段落 3 8 . 脂質ナノ粒子中に製剤化された段落 3 7 に記載の R N A .

【 0 2 6 3 】

段落 3 9 . 前記脂質ナノ粒子が、2 0 ~ 6 0 % のイオン化可能なアミノ脂質、5 ~ 2 5 % の非カチオン性脂質、2 5 ~ 5 5 % のステロール、及び 0 . 5 ~ 1 5 % の P E G 修飾脂質のモル比を含む、段落 3 8 に記載の R N A .

【 0 2 6 4 】

段落 4 0 . R N A 転写物を生成するためのインビトロ転写反応条件下で、ポリヌクレオチド鋳型を T 7 R N A ポリメラーゼバリエーション、ヌクレオシド三リン酸、及びキャップ類似体と反応させることを含む、リボ核酸 (R N A) 合成のための共転写キャッピング方法。

10

【 0 2 6 5 】

段落 4 1 . 前記生成された R N A 転写物の 8 0 % 超、8 5 % 超、または 9 0 % 超が、機能性キャップを含む、段落 4 0 に記載の方法。

【 0 2 6 6 】

段落 4 2 . 前記生成された R N A 転写物の 9 5 % 超が、機能性キャップを含む、段落 4 1 に記載の方法。

【 0 2 6 7 】

段落 4 3 . 前記ヌクレオシド三リン酸が、非修飾もしくは修飾 A T P 、修飾もしくは非修飾 U T P 、修飾もしくは非修飾 G T P 、及び / または修飾もしくは非修飾 C T P を含む、段落 4 0 ~ 4 2 のいずれか 1 つに記載の方法。

20

【 0 2 6 8 】

段落 4 4 . 前記 T 7 R N A ポリメラーゼバリエーションが、段落 1 ~ 2 1 のいずれか 1 つに記載の T 7 ポリメラーゼバリエーションである、段落 4 0 ~ 4 3 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 2 6 9 】

段落 4 5 . 前記 T 7 ポリメラーゼバリエーションが、E 4 2 、S 4 3 、Y 4 4 、E 4 5 、M 4 6 、G 4 7 、R 2 5 7 、及び G 2 5 9 から選択される位置に高性向アミノ酸の少なくとも 1 つのアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号 1 、配列番号 9 9 、または配列番号 1 0 0 によって特定されるアミノ酸配列を含む、段落 4 4 に記載の方法。

30

【 0 2 7 0 】

段落 4 6 . 前記 T 7 ポリメラーゼバリエーションが、G 4 7 A の位置にアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号 1 、配列番号 9 9 、または配列番号 1 0 0 によって特定されるアミノ酸配列を含む、段落 4 0 ~ 4 5 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 2 7 1 】

段落 4 7 . 前記 T 7 ポリメラーゼバリエーションが、S 4 3 A のアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号 1 、配列番号 9 9 、または配列番号 1 0 0 によって特定されるアミノ酸配列を含む、段落 4 0 ~ 4 5 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 2 7 2 】

段落 4 8 . 前記ヌクレオシド三リン酸及びキャップ類似体が、前記反応において等モル濃度で存在する、段落 4 0 ~ 4 7 のいずれか 1 つに記載の方法。

40

【 0 2 7 3 】

段落 4 9 . 前記反応におけるキャップ類似体とヌクレオシド三リン酸とのモル比が 1 : 1 より大きい、段落 4 0 ~ 4 7 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 2 7 4 】

5 0 . 前記反応におけるキャップ類似体とヌクレオシド三リン酸のモル比が 1 : 1 未満である、段落 4 0 ~ 4 7 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 2 7 5 】

段落 5 1 . 前記キャップ類似体が、ジヌクレオチドキャップ、トリヌクレオチドキャップ、またはテトラヌクレオチドキャップである、段落 4 0 ~ 5 0 のいずれか 1 つに記載の方法。

50

方法。

【0276】

段落52．キ前記ヤップ類似体が、トリヌクレオチドヤップである、段落40～50のいずれか1つに記載の方法。

【0277】

段落53．前記トリヌクレオチドヤップが、以下の配列：GAA、GAC、GAG、GAU、GCA、GCC、GCG、GCU、GGA、GGC、GGG、GGU、GUA、GUC、GUG、及びGUUから選択される配列を含む、段落51に記載の方法。

【0278】

段落54．前記トリヌクレオチドヤップが、以下の配列： $m^7GpppApA$ 、 $m^7GpppApC$ 、 $m^7GpppApG$ 、 $m^7GpppApU$ 、 $m^7GpppCpA$ 、 $m^7GpppCpC$ 、 $m^7GpppCpG$ 、 $m^7GpppCpU$ 、 $m^7GpppGpA$ 、 $m^7GpppGpC$ 、 $m^7GpppGpG$ 、 $m^7GpppGpU$ 、 $m^7GpppUpA$ 、 $m^7GpppUpC$ 、 $m^7GpppUpG$ 、及び $m^7GpppUpU$ から選択される配列を含む、段落53に記載の方法。

【0279】

段落55．前記トリヌクレオチドヤップが、以下の配列： $m^7G_3\text{ omerpppApA}$ 、 $m^7G_3\text{ omerpppApC}$ 、 $m^7G_3\text{ omerpppApG}$ 、 $m^7G_3\text{ omerpppApU}$ 、 $m^7G_3\text{ omerpppCpA}$ 、 $m^7G_3\text{ omerpppCpC}$ 、 $m^7G_3\text{ omerpppCpG}$ 、 $m^7G_3\text{ omerpppCpU}$ 、 $m^7G_3\text{ omerpppGpA}$ 、 $m^7G_3\text{ omerpppGpC}$ 、 $m^7G_3\text{ omerpppGpG}$ 、 $m^7G_3\text{ omerpppGpU}$ 、 $m^7G_3\text{ omerpppUpA}$ 、 $m^7G_3\text{ omerpppUpC}$ 、 $m^7G_3\text{ omerpppUpG}$ 、及び $m^7G_3\text{ omerpppUpU}$ から選択される配列を含む、段落53に記載の方法。

【0280】

段落56．前記トリヌクレオチドヤップが、以下の配列： $m^7G_3\text{ omerpppA}_2\text{ omerpA}$ 、 $m^7G_3\text{ omerpppA}_2\text{ omerpC}$ 、 $m^7G_3\text{ omerpppA}_2\text{ omerpG}$ 、 $m^7G_3\text{ omerpppA}_2\text{ omerpU}$ 、 $m^7G_3\text{ omerpppC}_2\text{ omerpA}$ 、 $m^7G_3\text{ omerpppC}_2\text{ omerpC}$ 、 $m^7G_3\text{ omerpppC}_2\text{ omerpG}$ 、 $m^7G_3\text{ omerpppC}_2\text{ omerpU}$ 、 $m^7G_3\text{ omerpppG}_2\text{ omerpA}$ 、 $m^7G_3\text{ omerpppG}_2\text{ omerpC}$ 、 $m^7G_3\text{ omerpppG}_2\text{ omerpG}$ 、 $m^7G_3\text{ omerpppG}_2\text{ omerpU}$ 、 $m^7G_3\text{ omerpppU}_2\text{ omerpA}$ 、 $m^7G_3\text{ omerpppU}_2\text{ omerpC}$ 、 $m^7G_3\text{ omerpppU}_2\text{ omerpG}$ 、及び $m^7G_3\text{ omerpppU}_2\text{ omerpU}$ から選択される配列を含む、段落53に記載の方法。

【0281】

段落57．前記トリヌクレオチドヤップが、以下の配列： $m^7GpppA_2\text{ omerpA}$ 、 $m^7GpppA_2\text{ omerpC}$ 、 $m^7GpppA_2\text{ omerpG}$ 、 $m^7GpppA_2\text{ omerpU}$ 、 $m^7GpppC_2\text{ omerpA}$ 、 $m^7GpppC_2\text{ omerpC}$ 、 $m^7GpppC_2\text{ omerpG}$ 、 $m^7GpppC_2\text{ omerpU}$ 、 $m^7GpppG_2\text{ omerpA}$ 、 $m^7GpppG_2\text{ omerpC}$ 、 $m^7GpppG_2\text{ omerpG}$ 、 $m^7GpppG_2\text{ omerpU}$ 、 $m^7GpppU_2\text{ omerpA}$ 、 $m^7GpppU_2\text{ omerpC}$ 、 $m^7GpppU_2\text{ omerpG}$ 、及び $m^7GpppU_2\text{ omerpU}$ から選択される配列を含む、段落53に記載の方法。

【0282】

段落58．前記トリヌクレオチドヤップが、以下の配列：GAG、GCG、GUG、及びGGGから選択される配列を含む、段落53～57のいずれか1つに記載の方法。

【0283】

段落59．前記トリヌクレオチドヤップが、配列GAGを含む、段落58に記載の方法。

【0284】

段落60．前記トリヌクレオチドヤップが、 $GpppA_2\text{ omerpG}$ を含む、段落59に記載の方法。

10

20

30

40

50

【 0 2 8 5 】

段落 6 1 . 前記ポリヌクレオチド鋳型が、鋳型位置 + 1 に 2 ´ - デオキシチミジン残基を含む、段落 4 0 ~ 6 0 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 2 8 6 】

段落 6 2 . 前記ポリヌクレオチド鋳型が、鋳型位置 + 1 に 2 ´ - デオキシシチジン残基を含む、段落 4 0 ~ 6 0 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 2 8 7 】

段落 6 3 . R N A 合成のための共転写キャッピング方法であって、R N A 転写物を生成するためのインビトロ転写反応条件下で、ポリヌクレオチド鋳型を (a) T 7 R N A ポリメラーゼバリエーションであって、野生型 R N A ポリメラーゼと比較して、前記 R N A ポリメラーゼバリエーションが開始複合体から伸長複合体に移行するにつれて R N A ポリメラーゼバリエーションの少なくとも 1 つのループ構造にヘリックス構造へのコンフォメーション変化を受けさせる少なくとも 1 つのアミノ酸置換を含む、前記 T 7 R N A ポリメラーゼバリエーション、(b) ヌクレオシド三リン酸、及び (c) 配列 G p p p A 2 ´ O m e p G を含むトリヌクレオチドキャップと反応させることを含み、前記ポリヌクレオチド鋳型が、鋳型位置 + 1 に 2 ´ - デオキシチミジン残基を含む、前記方法。

10

【 0 2 8 8 】

段落 6 4 . 前記生成された R N A 転写物が、任意選択により未精製形態で細胞に送達されたときに、検出可能なサイトカイン応答を刺激しない、段落 4 0 ~ 6 3 のいずれか 1 つに記載の方法。

20

【 0 2 8 9 】

段落 6 5 . インビトロ転写 (I V T) R N A 及び薬学的に許容される賦形剤を含む組成物であって、I V T 後の精製なしでサイトカイン誘導性 R N A 混入物を実質的に含まない、前記組成物。

【 0 2 9 0 】

段落 6 6 . インビトロ転写 (I V T) R N A 及び薬学的に許容される賦形剤を含む組成物であって、5 % 未満のキャップされていない R N A 種を有する、前記組成物。

【 0 2 9 1 】

段落 6 7 . 前記 I V T R N A の 8 0 % 、 8 5 % 、または 9 0 % 超が機能性キャップを含む、段落 6 5 または 6 6 に記載の組成物。

30

【 0 2 9 2 】

段落 6 8 . 前記 I V T R N A の 9 5 % 超が機能性キャップを含む、段落 6 7 に記載の組成物。

【 0 2 9 3 】

段落 6 9 . 前記 I V T R N A が化学修飾されていない、段落 6 5 ~ 6 8 のいずれか 1 つに記載の組成物。

【 0 2 9 4 】

段落 7 0 . 前記 I V T R N A が化学修飾されている、項 6 5 ~ 6 8 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【 0 2 9 5 】

段落 7 1 . 前記 I V T R N A の 9 5 % 超が一本鎖完全長転写物を含む、段落 6 5 ~ 7 0 のいずれか 1 つに記載の組成物。

40

【 0 2 9 6 】

段落 7 2 . 前記 R N A が、
R N A 転写物を生成するためのインビトロ転写反応条件下で、ポリヌクレオチド鋳型を (a) T 7 R N A ポリメラーゼバリエーションであって、野生型 R N A ポリメラーゼと比較して、前記 R N A ポリメラーゼバリエーションが開始複合体から伸長複合体に移行するにつれて R N A ポリメラーゼバリエーションの少なくとも 1 つのループ構造にヘリックス構造へのコンフォメーション変化を受けさせる少なくとも 1 つのアミノ酸置換を含む、前記 T 7 R N A ポリメラーゼバリエーション、(b) ヌクレオシド三リン酸、及び (c) 配列 G p p p A

50

2 Ome p Gを含むトリヌクレオチドキャップと反応させることを含むプロセスによって生成され、前記ポリヌクレオチド鋳型が、鋳型位置 + 1 に 2' - デオキシチミジン残基を含む、請求項 65 ~ 71 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【0297】

段落 73 . 野生型 T7 RNA ポリメラーゼと比較して少なくとも 1 つの追加の C 末端アミノ酸を含む、T7 RNA ポリメラーゼ。

【0298】

段落 74 . 少なくとも 2 つの追加の C 末端アミノ酸を含む、段落 73 に記載の T7 RNA ポリメラーゼ。

【0299】

段落 75 . 前記少なくとも 2 つの追加の C 末端アミノ酸が、同じ種類のアミノ酸または少なくとも 2 つの異なる種類のアミノ酸を含む、段落 74 に記載の T7 RNA ポリメラーゼ。

【0300】

段落 76 . 1 ~ 10 個の追加の C 末端アミノ酸を含む、段落 73 ~ 75 のいずれか 1 つに記載の T7 RNA ポリメラーゼ。

【0301】

段落 77 . 1 ~ 5 個の追加の C 末端アミノ酸を含む、段落 76 に記載の T7 RNA ポリメラーゼ。

【0302】

段落 78 . 前記 T7 RNA ポリメラーゼが F A F A X_n (配列番号 171) モチーフを含む C 末端を含み、X が任意のアミノ酸であり、n がゼロより大きい任意の整数である、段落 73 ~ 77 のいずれか 1 つに記載の T7 RNA ポリメラーゼ。

【0303】

段落 79 . X が G または A であり、任意選択により、X_n が G G または A A である、段落 78 に記載の T7 RNA ポリメラーゼ。

【0304】

段落 80 . n が 1、2、3、4、または 5 である、段落 78 または 79 に記載の T7 RNA ポリメラーゼ

【0305】

段落 81 . F A F A G (配列番号 329) モチーフを含む C 末端を含む、T7 RNA ポリメラーゼ。

【0306】

段落 82 . X A F A X_n モチーフ、F A X A X_n モチーフ、F A X A X_n モチーフ、または F A F X X_n モチーフを含む C 末端を含み、各 X が任意のアミノ酸であり、n がゼロより大きい任意の整数である、T7 RNA ポリメラーゼ。

【0307】

段落 83 . 前記 T7 RNA ポリメラーゼが、野生型 T7 RNA ポリメラーゼの位置 S43、G47、R257、または G259 に対応する位置に少なくとも 1 つの置換及び任意選択により少なくとも 1 つの追加の置換を含む、段落 73 ~ 82 のいずれか 1 つに記載の T7 RNA ポリメラーゼ。

【0308】

段落 84 . 前記野生型 T7 RNA ポリメラーゼが、配列番号 1 により特定されるアミノ酸配列を含む、段落 83 に記載の T7 RNA ポリメラーゼ。

【0309】

段落 85 . G47、S43、R257、及び G259 から選択される少なくとも 1 つの置換、及び任意選択により少なくとも 1 つの追加のアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号 99 のアミノ酸配列を含む、T7 RNA ポリメラーゼ。

【0310】

段落 86 . G47、S43、R257、及び G259 から選択される少なくとも 1 つの

10

20

30

40

50

置換、及び任意選択により少なくとも1つの追加のアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号100、294、296、または296のいずれか1つのアミノ酸配列を含む、T7 RNAポリメラーゼ。

【0311】

段落87．S43A、G47A、R257A、及びG259Aから選択される少なくとも1つの置換を含む、段落83～86のいずれか1つに記載のT7 RNAポリメラーゼ。

【0312】

段落88．配列番号294～313のいずれか1つのアミノ酸配列を含むT7 RNAポリメラーゼであって、xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5（例えば、1、2、3、4、または5）であり、任意選択により、T7 RNAポリメラーゼが少なくとも1つの追加のアミノ酸置換をさらに含む、前記T7 RNAポリメラーゼ。

10

【0313】

段落89．ヌクレオシド三リン酸及び緩衝液の存在下において、RNA転写物の生成をもたらす条件下で、DNA鋳型を段落73～88のいずれかのRNAポリメラーゼと接触させることを含む、インビトロ転写（IVT）反応を行う方法。

【0314】

段落90．前記生成されたRNAが、細胞に送達されたときに、WT T7 RNAPを用いて生成されたdsRNA転写物と比較して少なくとも50%低いサイトカイン応答を刺激する、段落89に記載の方法。

20

【0315】

91．前記RNAが未精製の形態で細胞に送達される、段落90に記載の方法。

【0316】

段落92．前記生成されたRNA転写物の30%未満が3'不均一性を示す、段落89～92のいずれか1つに記載の方法。

【0317】

段落93．段落73～92のいずれか1つに記載のRNAポリメラーゼをコードする核酸。

【0318】

段落94．段落93の核酸を含むベクター。

【0319】

30

段落95．段落93の核酸または段落94のベクターを含む宿主細胞。

【0320】

段落96．段落73～92のいずれか1つに記載のRNAポリメラーゼを含むキット。

【0321】

段落97．段落73～92のいずれか1つに記載のRNAポリメラーゼを含む組成物。

【0322】

段落98．段落89～92のいずれか1つに記載の方法によって生成されたりボ核酸（RNA）。

【0323】

段落99．脂質ナノ粒子中に製剤化された段落98に記載のRNA。

40

【0324】

段落100．前記脂質ナノ粒子が、20～60%のイオン化可能なアミノ脂質、5～25%の非カチオン性脂質、25～55%のステロール、及び0.5～15%のPEG修飾脂質のモル比を含む、段落98に記載のRNA。

【0325】

段落101．対応する野生型RNAポリメラーゼと比較して少なくとも1つの追加のC末端アミノ酸を含むRNAポリメラーゼであって、任意選択により、少なくとも1つの追加のC末端アミノ酸が、グリシン（G）及び/またはアラニン（A）を含む、前記RNAポリメラーゼ。

【0326】

50

段落 102 . 前記 RNA ポリメラーゼが、T7 RNA ポリメラーゼ、T3 RNA ポリメラーゼ、及び SP6 RNA ポリメラーゼから選択される、段落 101 に記載の RNA ポリメラーゼ。

【0327】

段落 103 . 前記 RNA ポリメラーゼが、少なくとも 1 つの追加のアミノ酸置換をさらに含み、任意選択により、S43A、G47A、R257A、及び G259A から選択される配列番号 1 のアミノ酸置換に対応するアミノ酸置換をさらに含む、段落 101 または 102 に記載の RNA ポリメラーゼ。

【0328】

段落 104 . 前記 RNA ポリメラーゼが、43 位、47 位、257 位、及び / または 259 位にアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号 1 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、または少なくとも 98 % 同一のアミノ酸配列を含む T7 RNA ポリメラーゼであり、任意選択により、アミノ酸置換がアラニン (A) である、段落 101 ~ 104 のいずれか 1 つに記載の RNA ポリメラーゼ。

10

【0329】

段落 105 . 前記 RNA ポリメラーゼが、44 位、48 位、258 位、及び / または 260 位にアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号 6 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、または少なくとも 98 % 同一のアミノ酸配列を含む T3 RNA ポリメラーゼであり、任意選択により、アミノ酸置換がアラニン (A) である、段落 101 ~ 104 のいずれか 1 つに記載の RNA ポリメラーゼ。

20

【0330】

段落 106 . 前記 RNA ポリメラーゼが、15 位、19 位、230 位、及び / または 232 位にアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号 7 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、または少なくとも 98 % 同一のアミノ酸配列を含む SP6 RNA ポリメラーゼであり、任意選択により、アミノ酸置換がアラニン (A) である、段落 101 ~ 104 のいずれか 1 つに記載の RNA ポリメラーゼ。

【0331】

段落 107 . 43 位、47 位、257 位、及び / または 259 位にアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号 1 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、または少なくとも 98 % 同一のアミノ酸配列を含み、任意選択により、アミノ酸置換がアラニン (A) である、T7 RNA ポリメラーゼ。

30

【0332】

段落 108 . 44 位、48 位、258 位、及び / または 260 位にアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号 6 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、または少なくとも 98 % 同一のアミノ酸配列を含み、任意選択により、アミノ酸置換がアラニン (A) である、T3 RNA ポリメラーゼ。

【0333】

段落 109 . 15 位、19 位、230 位、及び / または 232 位にアミノ酸置換を含むように修飾された配列番号 7 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、または少なくとも 98 % 同一のアミノ酸配列を含み、任意選択により、アミノ酸置換がアラニン (A) である、SP6 RNA ポリメラーゼ。

40

【表 1】

表 1. RNAポリメラーゼ配列

RNA ポリメ ラーゼ	アミノ酸配列	配列 番号
T 7 RNA ポリメ ラーゼ	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEEELPMKP EDIDMNEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISEFMLEQANKFANHKAIW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIY IVAKKVNELQADAINGTDNEVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQDLKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAF MNTIENIEKNDFSEIELAAIPFNTLADHYGSALAKEQLALEHESYELGERRF	1
T 3 RNA ポリメ ラーゼ	LKMLERQAKAGEIADNAAAKPLLATLLPKLTTRIVEWLEEYASKKGRKPSAY APLQLLKPEASAFITLKVILASLTSTNMTTIQAAAGMLGKAIIEDEARFGRIR DLEAKHFKKHVEEQLNKRHGQVYKAFMQVVEADMI GRLLGGEAWSSWDKE TTMHVGIRLIEMLIESTGLVELQRHNAGNAGSDHEALQLAQEYVDVLAKRAG ALAGISPMFQPCVVPKPKWVAITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKGLMRYEDV YMPEVYKAVNLAQNTAWKINKKVLAVVNEIVNWKNCPVADIPSLERQELPPK PDDIDTNEAALKEWKAAAGIYRLDKARVSRRISEFMLEQANKFASKKAIW FPYNMDWRGRVYAVPMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGEEGYWLKIHGANCA AGVDKVPFPERIAFIEKHVDDILACAKDPINNTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG GVTHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIY GIVAQKVNELKQDAINGTPNEMITVTDKDTGEISEKLKLGSTSLAQQWLAY GVTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLDLDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAG YMAKLIWDAVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTKEILRHRCVHW TTPDGFPVWQYRKPLQKRLDMI FLGQFRLQPTINTLKDSGIDAHKQESGIA PNFVHSQDGSHLRMTVVYAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAGKLFKAVRET MVTIYENNDVLADFYSQFADQLHETQLDKMPPLPKKGNLNLQDILKSDFAFA MQDLHAIQLQLEEEEMFNGGIRRFADQQRQIAAGSES DTAWNRRLLSELIA PMAEGIQAYKEEYEGKKGRAPRALAFLOQCVENEVAAYITMKVVM DMLNTD ATLQAIAMSV AERIEDQVRFSKLEGHAAKYFEKVKKSLKASRTKSYRHAHN VAVVAEKSVAEKDADFRWEAWPKETQLQIGTTLLEILEGSVFYNGEPVFM RAMRTYGGKTIYYLQTSSESVGQWISAFKEHVAQLSPAYAPCVIPPRP WRTPFNGGFHTEKVASRIRLVKGNREHVRKLTQKQMPKVYKAINALQNT QWQINKDVLAVIEVIRLDLGYGVPSFKPLIDKENK PANPVPVEFQHLR GRELKEMLSPEQWQOFINWKGE CARLYTAETKRGSKSAAVVRMVGQARKY SAFESIYFVYAMDSRSRVYVQSSTLSPQSN DLGKALLRFTEGRPVNG VEALKWFCINGANLWGWDKKTFDVRVSNVLD EEFQDMCRDIAADPL TFTQWAKADAPYEFLAWCFEY AQYLDLVD EGRADEFRTHLPVHQD GSCSGIQHYSAMLRDEVGAKAVNLKPSDAPQDIYGA VAQVVIKKNALY MDADDATFTSGSVTLSGTEL RAMASAWDSIGITRSLTKKPVMTLPY GSTRLTCRESVIDYIVDLEEKEAQKAVAEGRTANKVHPFEDDRQD YLTPGAAYNYMTALIWP SISEVVKAPIVAMKMI RQLARFAAKRNEGL MYTLP TGFILEQKIMATEMLRVRTCLMGDIKMSLQVETD IVD EAA MMGAAAPNFVHGHDASHLILTVCELVDKGVT SIAVIHDSFGTHADNT LTLRVALKGQMVAMYIDGNALQKLL EEEHVRWMDTGIEVPEQGEFDL NEIMDSEYVFA	6
S P 6 RNA ポリメ ラーゼ	MAEGIQAYKEEYEGKKGRAPRALAFLOQCVENEVAAYITMKVVM DMLNTD ATLQAIAMSV AERIEDQVRFSKLEGHAAKYFEKVKKSLKASRTKSYRHAHN VAVVAEKSVAEKDADFRWEAWPKETQLQIGTTLLEILEGSVFYNGEPVFM RAMRTYGGKTIYYLQTSSESVGQWISAFKEHVAQLSPAYAPCVIPPRP WRTPFNGGFHTEKVASRIRLVKGNREHVRKLTQKQMPKVYKAINALQNT QWQINKDVLAVIEVIRLDLGYGVPSFKPLIDKENK PANPVPVEFQHLR GRELKEMLSPEQWQOFINWKGE CARLYTAETKRGSKSAAVVRMVGQARKY SAFESIYFVYAMDSRSRVYVQSSTLSPQSN DLGKALLRFTEGRPVNG VEALKWFCINGANLWGWDKKTFDVRVSNVLD EEFQDMCRDIAADPL TFTQWAKADAPYEFLAWCFEY AQYLDLVD EGRADEFRTHLPVHQD GSCSGIQHYSAMLRDEVGAKAVNLKPSDAPQDIYGA VAQVVIKKNALY MDADDATFTSGSVTLSGTEL RAMASAWDSIGITRSLTKKPVMTLPY GSTRLTCRESVIDYIVDLEEKEAQKAVAEGRTANKVHPFEDDRQD YLTPGAAYNYMTALIWP SISEVVKAPIVAMKMI RQLARFAAKRNEGL MYTLP TGFILEQKIMATEMLRVRTCLMGDIKMSLQVETD IVD EAA MMGAAAPNFVHGHDASHLILTVCELVDKGVT SIAVIHDSFGTHADNT LTLRVALKGQMVAMYIDGNALQKLL EEEHVRWMDTGIEVPEQGEFDL NEIMDSEYVFA	7

10

20

30

40

50

RNA ポリメ ラーゼ	アミノ酸配列	配列 番号
K 1 1 RNA ポリメ ラーゼ	MNALNIGRND FSEIELAAIPYNI LSEHYGDQAAREQLALEHEAYELGRQRF L KMLERQVKAGEFADNAAKPLVLT LHPQLTKRIDDWKEEQANARGKKPRAYY PIKHGVASELAVSMGAEVLKEKRGVSSEAIALLTIKVVLGNAHRPLKGHNPA VSSQLGKALEDEARFGRIREQEAA YFKKNVADQLDKRVGHVYKKA FMQVVEA DMISKGMLGGDNWASWKTDEQMHVGT KLELLIEGTGLVEMTKNKMADGSDD VTSMQMVQLAPAFVELLSKRAGALAGISPMHQPCVVPKPPWVETVGGGYWSV GRRPLALVRTHSKKALRRYADVHMPEVYKAVNLAQNTPWKVNKKVLAVVNEI VNWKHCPVGDVPAIEREELPPRPDDIDTNEVARKAWRKEAAAVYRKDKARQS RRCRCFMVAQANKFANHKAIWFPYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKGSLT LAKGKPIGLDGFYWLKIHGANCAGVDKVPFPERIKFIEENEGNILASAADPL NNTWWTQQDSPFCFLAFCFEYAGVKHHGLNYNC SLPLAFDGS CSGIQHFSAM LRDSIGGRAVNLLPSDTVQDIYKIVADKVNEVLHQHAVNGSQT VVEQIADKE TGEFHEKVTLGESVLAAQWLQYGVTRKVTKR SVMTLAYGSKESLVRQQVLED TIQPAIDNGEGLMFTHPNQAGYMAKLIWDAVTVT VVAAVEAMNWLKSAAKL LAAEVKDKKTKEVLRKCAIHWVTPDGF PVWQEYRKQNZARLKLVLGQANV KMTYNTGKDSEIDAHKQESGIAPNFVHSQDGS HLRMTVVHANEVYGIDSFAL IHDSSGTIPADAGNLFKAVRETMVKT YEDNDVIADFYDQFADQLHESQLDKM PAVPAKGDLNLRDILESDFAF A	8

10

20

30

40

50

【表 2】

表 2. RNAポリメラーゼC末端バリエーション配列

RNAポリメラーゼ	アミノ酸配列	配列番号
T7 RNAポリメラーゼC末端バリエーション	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTLPLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPTGTGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI SEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAX ⁿ ⁿ (Xは任意のアミノ酸であり、 ⁿ は任意の整数、例えば 1 ~ 5 である)	99
T7 RNAポリメラーゼC末端バリエーション (追加の G)	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTLPLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPTGTGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI SEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKCAVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAG	100

10

20

30

40

50

RNAポリメラーゼ	アミノ酸配列	配列番号
T3 RNAポリメラーゼC末端バリエーション	<p>MNIIENIEKNDFSEIELAAIPFNTLADHYGSALAKEQLALEHESYELGERRFLKMLERQAKAGEIADNAAKPLLATLLPKLTTRIVEWLEEYASKGRKPSAYAPLQLLKPEASAFITLKVILASLTSTNMTTIQAAAGMLGKAIEDEARFGIRIDLEAKHFKKHVEEQLNKRHGQVYKAFMQVVEADMI GRGLLGGEAWSSWDKETTMHVGIIRLIEMLIESTGLVELQRHNAGNAGSDHEALQLAQEYVDVLAKRAGALAGISPMFQPCVVPKPPWVAITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKGLMRYEDVYMPEVYKAVNLAQNTAWKINKKVLAVVNEIVNWKNCVPADIPSLEEQELPPKPDDIDTNEAALKKEWKAAAGIYRLDKARVSRRI SLEFMLEQANKFASKKAIWFPYNMDWRGRVYAVPMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGEEGFYWLKIHGANCAGVDKVPFFPERIAFIEKHVDDILACAKDPINNTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAGVTHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYGIVAQKVNEILKQDAINGTPNEMITVTDKDTGEISEKLKLGSTSLAQQWLAYGVTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLDLTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGYMAKLIWDAVSVTVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTKELRHRCVHWTTPTDGFVWQYERKPLQKRLDMI FLGQFRLQPTINTLKDSGIDAHKQESGIANFVHSQDGSHLRMTVVYAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAGKLFKAVRETMVITYENNDVLADFYSQFADQLHETQLDKMPPLPKKGNLNLQDILKSDFAFA</p> <p>x_n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)</p>	101
T3 RNAポリメラーゼC末端バリエーション	<p>MNIIENIEKNDFSEIELAAIPFNTLADHYGSALAKEQLALEHESYELGERRFLKMLERQAKAGEIADNAAKPLLATLLPKLTTRIVEWLEEYASKGRKPSAYAPLQLLKPEASAFITLKVILASLTSTNMTTIQAAAGMLGKAIEDEARFGIRIDLEAKHFKKHVEEQLNKRHGQVYKAFMQVVEADMI GRGLLGGEAWSSWDKETTMHVGIIRLIEMLIESTGLVELQRHNAGNAGSDHEALQLAQEYVDVLAKRAGALAGISPMFQPCVVPKPPWVAITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKGLMRYEDVYMPEVYKAVNLAQNTAWKINKKVLAVVNEIVNWKNCVPADIPSLEEQELPPKPDDIDTNEAALKKEWKAAAGIYRLDKARVSRRI SLEFMLEQANKFASKKAIWFPYNMDWRGRVYAVPMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGEEGFYWLKIHGANCAGVDKVPFFPERIAFIEKHVDDILACAKDPINNTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAGVTHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYGIVAQKVNEILKQDAINGTPNEMITVTDKDTGEISEKLKLGSTSLAQQWLAYGVTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLDLTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGYMAKLIWDAVSVTVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTKELRHRCVHWTTPTDGFVWQYERKPLQKRLDMI FLGQFRLQPTINTLKDSGIDAHKQESGIANFVHSQDGSHLRMTVVYAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAGKLFKAVRETMVITYENNDVLADFYSQFADQLHETQLDKMPPLPKKGNLNLQDILKSDFAFA</p> <p>G</p>	102
S P 6 RNAポリメラーゼC末端バリエーション	<p>MQDLHAIQLQLEEEFMNGGIRRFADQQRQIAAGSESDTAWNRRLLSELIAPMAEGIQAYKEEYEGKKGRAPRALAFLQCVENEVAAYITMKVVM DMLNTD ATLQAIAMSV AERIEDQVRFSKLEGHAAKYFEKVKSLKASRTKSYRHAHNVA VVAEKSV A EKDA D FDRWEAWPKETQLQIGTTLLEILEGSVFYNGEPVFMRAMRTYGGKTIYYLQTS ES V G Q W I S A F K E H V A Q L S P A Y A P C V I P P R P W R T P F N G G F H T E K V A S R I R L V K G N R E H V R K L T Q K M P K V Y K A I N A L Q N T Q W I N K D V L A V I E V I R L D L G Y G V P S F K P L I D K E N K P A N P V P V E F Q H L R G R E L K E M L S P E Q W Q Q F I N W K G E C A R L Y T A E T K R G S K S A A V V R M V G Q A R K Y S A F E S I Y F V Y A M D S R S R V Y V Q S S T L S P Q S N D L G K A L L R F T E G R P V N G V E A L K W F C I N G A N L W G W D K K T F D V R V S N V L D E E F Q D M C R D I A A D P L T F T Q W A K A D A P Y E F L A W C F E Y A Q Y L D L V D E G R A D E F R T H L P V H Q D G S C S G I Q H Y S A M L R D E V G A K A V N L K P S D A P Q D I Y G A V A Q V V I K K N A L Y M D A D D A T T F T S G S V T L S G T E L R A M A S A W D S I G I T R S L T K K P V M T L P Y G S T R L T C R E S V I D Y I V D L E E K E A Q K A V A E G R T A N K V H P F E D D R Q D Y L T P G A A Y N Y M T A L I W P S I S E V V K A P I V A M K M I R Q L A R F A A K R N E G L M Y T L P T G F I L E Q K I M A T E M L R V R T C L M G D I K M S L Q V E T D I V D E A A M M G A A A P N F V H G H D A S H L I L T V C E L V D K G V T S I A V I H D S F G T H A D N T L T L R V A L K G Q M V A M Y I D G N A L Q K L L E E H E V R W M V D T G I E V P E Q G E F D L N E I M D S E Y V F A X_n</p> <p>(xは任</p>	103

10

20

30

40

50

RNAポリメラーゼ	アミノ酸配列	配列番号
	意のアミノ酸であり、 n は任意の整数、例えば1～5である)	
SP6 RNAポリメラーゼC末端バリエーション	<p>MODLHAIQLQLEEMFNGGIRRFADQQRQIAAGSESDTAWNRRLLSELIAP MAEGIQAYKEEYEGKKGRAPRALAFLQCVENEVAAYITMKVMDMLNTDATL QAIAMSVARIEDQVRFSKLEGHAAKYFEKVKKSLKASRTKSYRHAHNVAVV AEKSVAEKDADFDRWEAWPKETQLQIGTTLLEILEGSVFYNGEPVFMRAMRT YGKKTIIYYLQTSSESVGWISAFKEHVAQLSPAYAPCVIPRPWRTFPNGGFH TEKVASRIRLVKGNREHVRKLTQKQMPKVYKAINALQNTQWQINKDVLAVIE EVIRLDLGYGVPSFKPLIDKENKPANVPVVEFQHLRGRELKEMLSPEQWQOF INWKGECARLYTAETKRGSKSAAVVRMVGQARKYSAFESIYFVYAMDSRSRV YVQSSTLSPQSNLDLGKALLRFTEGRPVNGVEALKWFCINGANLWGWDKKTFD VRVSNVLDEEFQDMCRDIAADPLTFTQWAKADAPYEFWCFEYAYQYLDLVD EGRADEFRTHLPVHQDGSQGIQHSAMLRDEVGAKAVNLKPSDAPQDIYGA VAQVVIKKNALYMDADDATFTSGSVTLSTELRAMASAWDSIGITRSLTKK PVMTLPGSTRLTCSREVIDYIVDLEEKEAQKAVAEGRTANKVHPFEDDRQD YLTPGAAYNYMTALIWPSEVVKAPIVAMKMIQRLARFAAKRNEGLMYTLP TGFIEQKIMATEMLRVRTCLMGDIKMSLQVETDIVDEAAMMGAAAPNFVHG HDASHLILTVCELVDKGVTSIAVIHDSFGTHADNTLTLRVALKGQMVAMYID GNALQKLLLEEHEVRMVDTGIEVPEQGEFDLNEIMDSEYVFAG</p>	104
K11 RNAポリメラーゼC末端バリエーション	<p>MNALNIGRNDSEIELAAIPYNILSEHYGDQAAREQLALEHEAYELGRQRF KMLERQVKAGEFADNAAAKPLVLTLPQLTKRIDDWKEEQANARGKKPRAYY PIKHGVASELAVSMGAEVLKEKRGVSSEAIALLTIKVVLGNAHRPLKGHNPA VSSQLGKALEDEARFGRIREQEAAAYFKKNVADQLDKRVGHVYKKAQMVEA DMI SKGMLGGDNWASWKTDEQMHVGTKLELLI EGTGLVEMTKNKMADGSD VTSMQMVQLAPAFVELLSKRAGALAGISPMHQPCVVPKPKWVETVGGGYWSV GRRPLALVRTHSKKALRRYADVHMPVYKAVNLAQNTPWKVNKKVLAVVNEI VNWKHCPVGDVPAIEREELPPRPDDIDTNEVARKAWRKEAAAVYRKDKARQS RRCRCEFMVAQANKFANHKAIWFPYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGS LTLAKGKPIGLDGFYWLKIHGANCAGVDKVPFPERIKFIEENEGNILASAADPL NNTWWTQQDSPFCFLAFCFEYAGVKHHGLNYNCSLPLAFDGSQSGIQHFSAM LRDSIGGRAVNLPSDTVQDIYKIVADKNEVLHQHAVNGSQTVVEQIADKE TGEFHEKVTLGESVLAAQWLQYGVTRKVTKRSVMTLAYGSKESLVRQQVLED TIQPAIDNGEGLMFTHPNQAGYMAKLIWDAVTVTVAAVEAMNWLKSAKL LAEEVKDKKTKEVLKRCAIHWVTPDGFVWQEYRKQONQARLKLVLGQANV KMTYNTGKDSEIDAHKQESGIAPNFVHSQDGSRLMTVVHANEVYGIDSFAL IHDSSGTIPADAGNLFKAVRETVMKTYEDNDVIADFYDQFADQLHESQLDKM</p> <p>PAVPAKGDLNLRDILESDFAFAX_n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)</p>	105
K11 RNAポリメラーゼC末端バリエーション	<p>MNALNIGRNDSEIELAAIPYNILSEHYGDQAAREQLALEHEAYELGRQRF KMLERQVKAGEFADNAAAKPLVLTLPQLTKRIDDWKEEQANARGKKPRAYY PIKHGVASELAVSMGAEVLKEKRGVSSEAIALLTIKVVLGNAHRPLKGHNPA VSSQLGKALEDEARFGRIREQEAAAYFKKNVADQLDKRVGHVYKKAQMVEA DMI SKGMLGGDNWASWKTDEQMHVGTKLELLI EGTGLVEMTKNKMADGSD VTSMQMVQLAPAFVELLSKRAGALAGISPMHQPCVVPKPKWVETVGGGYWSV</p>	106

10

20

30

40

50

R N A ポリメラーゼ	アミノ酸配列	配列番号
	GRRPLALVRTHSKKALRRYADVHMPEVYKAVNLAQNTPWKVNKKVLAVVNEI VNWKHCVPVGDVPAIEREELPPRPDDIDTNEVARKAWRKEAAAVYRKDKARQS RRCRCCEFMVAQANKFANHKAIWFPYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKGSIT LAKGKPIGLDGFYWLKIHGANCAGVDKVPFPERIKFIEENEGNILASAADPL NNTWWTQQDSPFCFLAFCFEYAGVKHHGLNYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAM LRDSIGGRAVNLLPSDTVQDIYKIVADKVNEVLHQHAVNGSQTVVEQIADKE TGEFHEKVTLGESVLAQWLQYGVTRKVTKRSMVTLAYGSKESLVRQQVLED TIQPAIDNGEGLMFTHPNQAAGYMAKLIWDAVTVTVVAAVEAMNWLKSAAKL LAAEVKDKKTKEVLRKRCIHWVTPDGFVWQEYRKQNQARLKLVLGQANV KMTYNTGKDSEIDAHKQESGIAPNFVHSQDGSHLRMTVVHANEVYGIDSFAL IHDSSGTIPADAGNLFKAVRETMVKTYEDNDVIADFYDQFADQLHESQLDKM PAVPAKGDNLNRDILESDFAFAG	10

【実施例】

【0334】

実施例1．バリエーション7 RNAポリメラーゼの生成 20

Cヘリックス及びCリンカー7 RNAポリメラーゼバリエーションを、表3及び表4に示される置換を用いて生成した。

30

40

50

【表 3】

表 3. T7 RNAポリメラーゼバリエーション

T7 RNA ポリメラーゼバリエーション	アミノ酸配列	配列 番号
S 4 3 A	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHEA A YEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKA F MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSE T IELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI S LEFMLEQANKFANHKA I WF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYW L KIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQD S PFCLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIY G IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGT K ALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED T IQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAKLLAAEVKD K KTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQ E YKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRET M VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKG N LNRDILESDFAF A	2
G 4 7 A	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEM A EARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKA F MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSE T IELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI S LEFMLEQANKFANHKA I WF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYW L KIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQD S PFCLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIY G IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGT K ALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED T IQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAKLLAAEVKD K KTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQ E YKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRET M VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKG N LNRDILESDFAF A	3

10

20

30

40

50

T 7 R N Aポリメ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
R 2 5 7 A	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSETIELAPEYAEAIATAAGA LAGISPMFQPCVVPK PWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACA KSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL LPSSETVQDIYG IVAKKVN EILQADAINGTDNEVTVTDENTGEI SEKVLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSK EFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQD GSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDOFADQLHESOLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAF A	4
G 2 5 9 A	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSETIELAPEYAEAIATRAA LAGISPMFQPCVVPK PWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACA KSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL LPSSETVQDIYG IVAKKVN EILQADAINGTDNEVTVTDENTGEI SEKVLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSK EFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQD GSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDOFADQLHESOLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAF A	5
E 4 2 A	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHAS YEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKA F MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPK PWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA	9

10

20

30

40

50

T7 RNAポリメラーゼバリアント	アミノ酸配列	配列番号
	RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWCLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVW TPDGFPVWQEQYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIA PNFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRDILESDFafa	
E42I	MNTINIAKNDFSIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHISYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLT SAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGDSETIELAPEYAEAIA TRAGA LAGISPMFQPCVVPKPPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWCLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK	10

T7 RNAポリメラーゼバリエーション	アミノ酸配列	配列番号
	S P L E N T W W A E Q D S P F C F L A F C F E Y A G V Q H H G L S Y N C S L P L A F D G S C S G I Q H F S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T D E N T G E I S E K V K L G T K A L A G Q W L A Y G V T R S V T K R S V M T L A Y G S K E F G F R Q Q V L E D T I Q P A I D S G K G L M F T Q P N Q A A G Y M A K L I W E S V S V T V V A A V E A M N W L K S A A K L L A A E V K D K K T G E I L R K R C A V H W V T P D G F P V W Q E Y K K P I Q T R L N L M F L G Q F R L Q P T I N T N K D S E I D A H K Q E S G I A P N F V H S Q D G S H L R K T V V W A H E K Y G I E S F A L I H D S F G T I P A D A A N L F K A V R E T M V D T Y E S C D V L A D F Y D Q F A D Q L H E S Q L D K M P A L P A K G N L N L R D I L E S D F A F A	
E42L	M N T I N I A K N D F S D I E L A A I P F N T L A D H Y G E R L A R E Q L A L E H L S Y E M G E A R F R K M F E R Q L K A G E V A D N A A K P L I T T L L P K M I A R I N D W F E E V K A K R G K R P T A F Q F L Q E I K P E A V A Y I T I K T T L A C L T S A D N T T V Q A V A S A I G R A I E D E A R F G R I R D L E A K H F K K N V E E Q L N K R V G H V Y K K A F M Q V V E A D M L S K G L L G G E A W S S W H K E D S I H V G V R C I E M L I E S T G M V S L H R Q N A G V V G Q D S E T I E L A P E Y A E A I A T R A G A L A G I S P M F Q P C V V P P K P W T G I T G G G Y W A N G R R P L A L V R T H S K K A L M R Y E D V Y M P E V Y K A I N I A Q N T A W K I N K K V L A V A N V I T K W K H C P V E D I P A I E R E E L P M K P E D I D M N P E A L T A W K R A A A A V Y R K D K A R K S R R I S L E F M L E Q A N K F A N H K A I W F P Y N M D W R G R V Y A V S M F N P Q G N D M T K G L L T L A K G K P I G K E G Y Y W L K I H G A N C A G V D K V P F P E R I K F I E E N H E N I M A C A K S P L E N T W W A E Q D S P F C F L A F C F E Y A G V Q H H G L S Y N C S L P L A F D G S C S G I Q H F S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T	11

10

20

30

40

50

T 7 R N Aポリメ ラーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	DENTGE I SEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVS SVTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGE I LRKRC AVHWV TPDGF PVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSE IDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTI PADAANL FKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RD ILESDF AFA	
E 4 2 M	MNTINIAKND FSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHMSYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAI GRAI EDEARFGRIRD LEAKHF KKNVEEQ LNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCI EMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAML RDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGE I SEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVS SVTVVA AVEAMNWLKSA	1 2

10

20

30

40

50

T7 RN Aポリメ ラーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLKFVRET MVDTYESCDVLADFDYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNNLRDILESDFAF	
E42K	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHKS YEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGQDSETIELAPEYAEA IATRAGA LAGISPMFQPCVVPK PWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES	13

10

20

30

40

50

T7 RN Aポリメ ラーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	FALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNNLRDILESDFAF	
E42Q	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHQSSEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEA IATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAML RDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKD KKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNNLRDILESDFAF	14
S43I	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD	15

10

20

30

40

50

T7 RNA ポリメラーゼ サブユニット	アミノ酸配列	配列番号
	HYGERLAREQLALEHEIYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWS SWHKEDSIHVGVRCEML IESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAE AIA TRAGALAGISPMFQPCV VPPKPPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPA IEREELPMKPEDIDMNPEALTAWKRAAA AVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFAN HKAIIWFPYNMDWRGRVYAVSMFNPQGN DMTKGLLTLAKGKPIGKEGYW LKI HGANGVDKVPFPERIKFIEENHEN IMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFC FEYAGVQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLP SETVQDIYGIIVAKKVNEILQADAI NGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYGVTRSVTKRSVMTLAYG SKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLM FTQPNQAAGYMAKLIWESVSVTVVAA VEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEI LRKRCVHWVTPDGFVPVWQEYKKPIQ TRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDA HKQESGIIAPN FVHSQDGS HLRKT VVWAHEKYGIESFALIHDSFG TIPADAANL FKA VRETMDTYE SCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRDILESDF AFA	
S43L	MNTINIAKNDFS DIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHELYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLT SAD	16

40

T7 RN Aポリメ ラーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	N T T V Q A V A S A I G R A I E D E A R F G R I R D L E A K H F K K N V E E Q L N K R V G H V Y K K A F M Q V V E A D M L S K G L L G G E A W S S W H K E D S I H V G V R C I E M L I E S T G M V S L H R Q N A G V V G Q D S E T I E L A P E Y A E A I A T R A G A L A G I S P M F Q P C V V P P K P W T G I T G G G Y W A N G R R P L A L V R T H S K K A L M R Y E D V Y M P E V Y K A I N I A Q N T A W K I N K K V L A V A N V I T K W K H C P V E D I P A I E R E E L P M K P E D I D M N P E A L T A W K R A A A A V Y R K D K A R K S R R I S L E F M L E Q A N K F A N H K A I W F P Y N M D W R G R V Y A V S M F N P Q G N D M T K G L L T L A K G K P I G K E G Y Y W L K I H G A N C A G V D K V P F P E R I K F I E E N H E N I M A C A K S P L E N T W W A E Q D S P F C F L A F C F E Y A G V Q H H G L S Y N C S L P L A F D G S C S G I Q H F S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T D E N T G E I S E K V K L G T K A L A G Q W L A Y G V T R S V T K R S V M T L A Y G S K E F G F R Q Q V L E D T I Q P A I D S G K G L M F T Q P N Q A A G Y M A K L I W E S V S V T V V A A V E A M N W L K S A A K L L A A E V K D K K T G E I L R K R C A V H W V T P D G F P V W Q E Y K K P I Q T R L N L M F L G Q F R L Q P T I N T N K D S E I D A H K Q E S G I A P N F V H S Q D G S H L R K T V V W A H E K Y G I E S F A L I H D S F G T I P A D A A N L F K A V R E T M V D T Y E S C D V L A D F Y D Q F A D Q L H E S Q L D K M P A L P A K G N L N L R D I L E S D F A F A	
S 4 3 M	M N T I N I A K N D F S D I E L A A I P F N T L A D H Y G E R L A R E Q L A L E H E M Y E M G E A R F R K M F E R Q L K A G E V A D N A A K P L I T T L L P K M I A R I N D W F E E V K A K R G K R P T A F Q F L Q E I K P E A V A Y I T I K T T L A C L T S A D N T T V Q A V A S A I G R A I E D E A R F G R I R D L E A K H F K K N V E E Q L N K R V G H V Y K K A F M Q V V E A D M L S K G L L G G E A W S S W H K E D S I H V G V R C I E M L I E S T G M V S L H R Q N A	1 7

T7 RN Aポリメ ラーゼバ リア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHF SAML RDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGF PVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFafa	
S43K	MNTINIAKND FSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHEKYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLS KGLLGGEAWS SWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA	18

T7 RN Aポリメラ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	NVITKWKHC PVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGCSCSGIQHF SAML RDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVS VTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGF PVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDA HKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFDYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RDILESDFAF A	
S43Q	MNTINIAKND FSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHEQYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHF KKNVEEQ LNKRVGHVYKKA F MQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEA IATRAGA LAGISPMFQPCVVP PPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHC PVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG	19

T7 RNAポリメラーゼバリアント	アミノ酸配列	配列番号
	LLTLAKGKPIGKEGYWCLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANL FKAVRETM VDTYESCDVLADFDYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAF	
S43E	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHEEYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHF KKNVEEQNLNKR VGHVYKKA F MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGDSETIELAPEYAEA IATRAGA LAGISPMFQPCVVPK PWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWCLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHF	20

T7 RN Aポリメ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLFAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAF	
Y44A	MNTINIAKNDFSIDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESAEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHF KKNVEEQ LNKRVGHVYKKA F MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV	21

T7 RN Aポリメ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NRVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLKFVRET VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAF	
Y44I	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESIEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGR IRDLEAKHFKKNVEEQLNKRVG HGVYKKAFMQVVEADMLSKGLLG GEAWSSWHKEDSIHVGVR CIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGQDSETIELAPEYAEAI ATRAGALAGISPMFQPCVVP PKPWTGITGGGYWANGRRPL ALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKK VLAVANVITKWKHCPVEDIPA IEREELPMKPEDIDMNPEAL TAWKRAAAAVYRKDKARKS RRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMF NPQGNDMTKGLLT LAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEEN HENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFC FLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLA FDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVN LLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAI NGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLG TKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTL AYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ	22

10

20

30

40

50

T7 RN Aポリメ ラーゼバ リアン ト	アミノ酸配列	配列 番号
	FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAF	
Y44L	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESLEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGQDSETIELAPEYAEA IATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWVKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL	23

10

20

30

40

50

T7 RN Aポリメ ラーゼバ リエー ント	アミノ酸配列	配列 番号
	DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAF	
Y44M	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESMEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTLL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSEITIELAPEYAEAIA TRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYW LKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHF SAML RDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAIN GTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANL FKAVRETM VDTYESCDVLADFDYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAF	24
Y44K	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESKEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTLL	25

10

20

30

40

50

50

40

40

T7 RN Aポリメ ーゼパリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESG IAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFA	
E45I	MNTINIAKNDFS DIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYIMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK	29

T7 RNA ポリメラーゼ バリエーション	アミノ酸配列	配列 番号
	SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NRVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLKFVRETMT VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAF	10
E45L	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYLMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSAD NNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT	30

10

20

30

40

50

T7 RN Aポリメ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFafa	
E45M	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYMMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHF KKNVEEQ LNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVR CIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGQDSE TIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHC PVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYW LKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA	31

10

20

30

40

50

T7 RNA ポリメ ラーゼバ リエー ント	アミノ酸配列	配列 番号
	AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFBVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLFAKAVRETM VDTYESCDVLADFDYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAF	
E45K	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYKMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSA NTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWYWLKIHGANC GVVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHF SAML RDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFBVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES	32

10

20

30

40

50

T7 RN Aポリメ ラーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	FALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLNRDILESDFafa	
E45Q	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYQMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWS SWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKL IWESVSVTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLNRDILESDFafa	33
M46A	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD	34

10

20

30

40

50

T7 RN Aポリメ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	HYGERLAREQLALEHESYEAGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLT SAD NTTVQAVASAI GRAI EDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKR VGHVYKKA F MQVVEADMLSKGLLGGEAWS SWHKED SIHVGVRCI EMLI ESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETI ELAPEYAEA IATRAGA LAGISPMFQPCVVP PPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHF SAML RDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAI NGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDA HKQESG IAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANL FKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RDILESDF AFA	
M46I	MNTINIAKND FSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEIGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLT SAD	35

T7 RN Aポリメ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	NTTVQAVASAI GRAI EDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLSKGL LGGEAWSSWHKED SIHVGVR CIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGQDSETI ELAPEYAEA IATRAGA LAGISPMFQPCVVP PKPWTGITGGGY WANGRRPLALVR THSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRNLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANL FKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RDILESDFafa	
M46L	MNTINIAKNDFS DIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYELGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAI GRAI EDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLSKGL LGGEAWSSWHKED SIHVGVR CIEMLIESTGMVSLHRQNA	36

50

50

T7 RNAポリメラーゼバリアント	アミノ酸配列	配列番号
	LLTLAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAIN GTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQD GSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANL FKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RDILESDFAF A	
M46E	MNTINIAKND FSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEEGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHF KKNVEEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLS KGLLGGEAWS SWHKED SIHVGVR CIEMLIESTGMVSLHRQNA GVGQDSE TIELAPEYAEA IATRAGA LAGISPMFQPCVVP PKPWTGITGGGY WANGRRPLALVR THSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHF	40

T7 RN Aポリメ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIA PNFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFafa	
G47I	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMIEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWVKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV	41

10

20

30

40

50

T7 RN Aポリメ ラーゼバ リアン ト	アミノ酸配列	配列 番号
	LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NRVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLKFVRET VDTYESCDVLADFDYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAF	
G47L	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMLEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGR IRDLEAKHFKKNVEEQLNKRVG HGVYKKAFMQVVEADMLSKGLLG GEAWSSWHKEDSIHVGVR CIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGQDSETIELAPEYAEAI ATRAGALAGISPMFQPCVVP PKPWTGITGGGYWANGRRPL ALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINK KVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKPEDIDMNPE ALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRI SLEFMLEQANKFAN HKAIWFPYNMDWRGRVYAV SMFNPQGNDMTKGLLTLAK GKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHEN IMACAKSPLENTWWAEQDS PFCFLAFCFEYAGVQHHGL SYNC SLPLAFDGSCSGIQ HFSAMLRDEVGGRAVNLLP SETVQDIYGI VAKKVNEIL QADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAG QWLAYGVTRSVTKRSVMT LAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ	42

10

20

30

40

50

T7 RNAポリメラーゼバリエーション	アミノ酸配列	配列番号
	FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESG IAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAF A	
G47M	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMMEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYW LKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVS VTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGF PVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESG IAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL	43

10

20

30

40

50

T7 RN Aポリメ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAF	
G47K	MNTINIAKNDFS DIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMKEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAI GRAI EDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCI EMLI ESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVP PPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVI TKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPI GKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHF SAML RDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAI NGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVS SVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGF PVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDA HKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIES FALI HDSFGTIPADAANL FKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAF	44
G47Q	MNTINIAKNDFS DIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMQEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL	45

T7 RNAポリメラーゼバリアント	アミノ酸配列	配列番号
	PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHF KKNVEEQ LNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCI EMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGQDSETI ELAPEYAEA IATRAGA LAGISPMFQPCVVP PKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAI NGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYS KEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDA HKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANL FKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RDILESDFAF	
G47E	MNTINIAKND FSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMEEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHF KKNVEEQ LNKRVGHVYKKAF	46

40

T7 RNA ポリメ ラーゼバ リアン ト	アミノ酸配列	配列 番号
	MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGQDSETIELAPEYAEAIA TRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHC PVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHF SAML RDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDA HKQESG IAP N FVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANL FKA VRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RDILESDF AFA	
A255I	MNTINIAKND FSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGQDSETIELAPEYAEAIIIT IAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGY	315

T7 RNA ポリメ ラーゼバ リアン ト	アミノ酸配列	配列 番号
	WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIW FPNYMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANL FKA VRET MVD TYE SC DVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFA	
A255K	MNTINIAKND FSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTL LPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHF KKNVEEQ LNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWS SWHKED SIHVG VRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVV GQDSETIELAPEYAEAIKTIAGA LAGISPMFQPCVVPK PWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA	316

T7 RN Aポリメ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESG IAP NFVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANL FKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RDILESDFafa	
A255Q	MNTINIAKNDFS DIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHF KKNVEEQ LNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGDSETIELAPEYAEAIQTIAGA LAGISPMFQPCVVP PKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK	317

T7 RN Aポリメ ラーゼバ リエ ント	アミノ酸配列	配列 番号
	SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NRVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLKFVRET MVDTYESCDVLADFDYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAF	
A255Y	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGR IRDLEAKHFKKNVEEQLNKR VGHVYK KAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSW HKEDSIHVGVRCEMLIESTGMVSLH RQNA GVVGGQDSETIELAPEYAEAIY TIAGALAGISPMFQPCVVPPKPWTG ITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALM RYEDVYMPEVYKAINIAQNTAWKIN KKVLA VANVITKWKHCPVEDIPAIE REELPMKPEDIDMNPEALTAWKRAA AAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQAN KFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVS MFNPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKE GYYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIK FIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQ DSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNC SLPLAFDGS CSGIQHF SAMLRDEVG GRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNE ILQADAINGTDNEVVTVT	31 8

10

20

30

40

50

T7 RN Aポリメ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NfVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFafa	
R257I	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGDSETIELAPEYAEAIATIAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWLVKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA	47

10

20

30

40

50

T7 RN Aポリメ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRDILESDFAF	
R257L	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLT SAD NTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHF KKNVEEQ LNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGDSETIELAPEYAEAIATLAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES	48

10

20

30

40

50

T7 RN Aポリメ ラーゼバ リアン ト	アミノ酸配列	配列 番号
	FALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFafa	
R257M	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATMAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYW LKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAML RDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAIN GTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFafa	49
R257K	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD	50

10

20

30

40

50

50

T7 RNAポリメラーゼバリアント	アミノ酸配列	配列番号
	NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGQDSETIELAPEYAEAIATQAGA LAGISPMFQPCVPPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHC PVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANL FKA VRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAF A	52
R257E	MNTINIAKNDFS DIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNA	52

50

T7 RN Aポリメ ラーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	GVVGGDSETIELAPEYAEAIA TEAGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAIN GTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDA HKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANL FKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RDILESDFAF A	
A258I	MNTINIAKNDFS DIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLIT TLL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQ LNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGDSETIELAPEYAEAIA TRIGA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA	53

T 7 R N Aポリメ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	NVITKWKHC PVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDA HKQESGIAP N FVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANL FKA VRETM VDTYESCDVLADFDYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RDILESDFAF A	
A 2 5 8 L	MNTINIAKNDFS DIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLIT TLL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGDSETIELAPEYAEA IATRLGA LAGISPMFQPCVVP PKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHC PVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG	5 4

T7 RN Aポリメ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	LLTLAKGKPIGKEGYWCLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHF SAML RDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG I VAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRNLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANL FKA VRETM VDTYESCDVLADFDYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RDILESDFAF A	
A258M	MNTINIAKNDFS DIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVAS AIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNV EEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVR CIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGQDSETIELAPEYAEA IATRMGA LAGISPMFQPCVVP PKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWCLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHF	55

T7 RNAポリメラーゼバリエーション	アミノ酸配列	配列番号
	S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T D E N T G E I S E K V K L G T K A L A G Q W L A Y G V T R S V T K R S V M T L A Y G S K E F G F R Q Q V L E D T I Q P A I D S G K G L M F T Q P N Q A A G Y M A K L I W E S V S V T V V A A V E A M N W L K S A A K L L A A E V K D K K T G E I L R K R C A V H W V T P D G F P V W Q E Y K K P I Q T R L N L M F L G Q F R L Q P T I N T N K D S E I D A H K Q E S G I A P N F V H S Q D G S H L R K T V V W A H E K Y G I E S F A L I H D S F G T I P A D A A N L F K A V R E T M V D T Y E S C D V L A D F Y D Q F A D Q L H E S Q L D K M P A L P A K G N L N L R D I L E S D F A F A	
A258K	M N T I N I A K N D F S D I E L A A I P F N T L A D H Y G E R L A R E Q L A L E H E S Y E M G E A R F R K M F E R Q L K A G E V A D N A A A K P L I T T L L P K M I A R I N D W F E E V K A K R G K R P T A F Q F L Q E I K P E A V A Y I T I K T T L A C L T S A D N T T V Q A V A S A I G R A I E D E A R F G R I R D L E A K H F K K N V E E Q L N K R V G H V Y K K A F M Q V V E A D M L S K G L L G G E A W S S W H K E D S I H V G V R C I E M L I E S T G M V S L H R Q N A G V V G Q D S E T I E L A P E Y A E A I A T R K G A L A G I S P M F Q P C V V P P K P W T G I T G G G Y W A N G R R P L A L V R T H S K K A L M R Y E D V Y M P E V Y K A I N I A Q N T A W K I N K K V L A V A N V I T K W K H C P V E D I P A I E R E E L P M K P E D I D M N P E A L T A W K R A A A A V Y R K D K A R K S R R I S L E F M L E Q A N K F A N H K A I W F P Y N M D W R G R V Y A V S M F N P Q G N D M T K G L L T L A K G K P I G K E G Y Y W L K I H G A N C A G V D K V P F P E R I K F I E E N H E N I M A C A K S P L E N T W W A E Q D S P F C F L A F C F E Y A G V Q H H G L S Y N C S L P L A F D G S C S G I Q H F S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T D E N T G E I S E K V K L G T K A L A G Q W L A Y G V T R S V T K R S V M T L A Y G S K E F G F R Q Q V	56

T7 RN Aポリメ ラーゼバ リア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NNVHVSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLKFVRETMD VDTYESCDVLADFDYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAF	
A258Q	MNTINIAKNDFSIEELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLT SAD NNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHF KKNVEEQ LNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWS SWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGQDSEITIELAPEYAEAIATRQGA LAGISPMFQPCVVPKPTGTGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ	57

10

20

30

40

50

T7 RN Aポリメ ラーゼバ リアン ト	アミノ酸配列	配列 番号
	FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAF	
A258E	MNTINIAKNDFS DIE LA A I P F N T L A D H Y G E R L A R E Q L A L E H E S Y E M G E A R F R K M F E R Q L K A G E V A D N A A K P L I T T L L P K M I A R I N D W F E E V K A K R G K R P T A F Q F L Q E I K P E A V A Y I T I K T T L A C L T S A D N T T V Q A V A S A I G R A I E D E A R F G R I R D L E A K H F K K N V E E Q L N K R V G H V Y K K A F M Q V V E A D M L S K G L L G G E A W S S W H K E D S I H V G V R C I E M L I E S T G M V S L H R Q N A G V V G Q D S E T I E L A P E Y A E A I A T R E G A L A G I S P M F Q P C V V P P K P W T G I T G G G Y W A N G R R P L A L V R T H S K K A L M R Y E D V Y M P E V Y K A I N I A Q N T A W K I N K K V L A V A N V I T K W K H C P V E D I P A I E R E E L P M K P E D I D M N P E A L T A W K R A A A A V Y R K D K A R K S R R I S L E F M L E Q A N K F A N H K A I W F P Y N M D W R G R V Y A V S M F N P Q G N D M T K G L L T L A K G K P I G K E G Y Y W L K I H G A N C A G V D K V P F P E R I K F I E E N H E N I M A C A K S P L E N T W W A E Q D S P F C F L A F C F E Y A G V Q H H G L S Y N C S L P L A F D G S C S G I Q H F S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T D E N T G E I S E K V K L G T K A L A G Q W L A Y G V T R S V T K R S V M T L A Y G S K E F G F R Q Q V L E D T I Q P A I D S G K G L M F T Q P N Q A A G Y M A K L I W E S V S V T V V A A V E A M N W L K S A A K L L A A E V K D K K T G E I L R K R C A V H W V T P D G F P V W Q E Y K K P I Q T R L N L M F L G Q F R L Q P T I N T N K D S E I D A H K Q E S G I A P N F V H S Q D G S H L R K T V V W A H E K Y G I E S F A L I H D S F G T I P A D A A N L F K A V R E T M V D T Y E S C D V L A D F Y D Q F A D Q L H E S Q L	58

10

20

30

40

50

T7 RN Aポリメ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAF	
G259I	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWS SWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAIA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWYWLKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAML RDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFVPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANL FKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAF	59
G259L	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL	60

10

20

30

40

50

40

T7 RNA ポリメ ラーゼバ リアン ト	アミノ酸配列	配列 番号
	MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGQDSETIELAPEYAEAIA TRAMA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHC PVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHF SAML RDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAI NGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTR LNL MFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDA HKQESG IAP N FVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANL FKA VRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFA	
G259K	MNTINIAKND FSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLIT TLL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGQDSETIELAPEYAEAIA TRAKA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGY	62

50

T7 RNAポリメラーゼバリエーション	アミノ酸配列	配列番号
	RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHF SAML RDEVG GRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANL FKAVRETM VDTYESCDVLADFDYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RDILESDFAF A	
G259E	MNTINIAKNDFS DIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWS SWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGQDSETIELAPEYAEA IATRAEA LAGISPMFQPCVVP PPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK	64

T7 RN Aポリメ ラーゼバ リアン ト	アミノ酸配列	配列 番号
	S P L E N T W W A E Q D S P F C F L A F C F E Y A G V Q H H G L S Y N C S L P L A F D G S C S G I Q H F S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T D E N T G E I S E K V K L G T K A L A G Q W L A Y G V T R S V T K R S V M T L A Y G S K E F G F R Q Q V L E D T I Q P A I D S G K G L M F T Q P N Q A A G Y M A K L I W E S V S V T V V A A V E A M N W L K S A A K L L A A E V K D K K T G E I L R K R C A V H W V T P D G F P V W Q E Y K K P I Q T R L N L M F L G Q F R L Q P T I N T N K D S E I D A H K Q E S G I A P N F V H S Q D G S H L R K T V V W A H E K Y G I E S F A L I H D S F G T I P A D A A N L F K A V R E T M V D T Y E S C D V L A D F Y D Q F A D Q L H E S Q L D K M P A L P A K G N L N L R D I L E S D F A F A	
A 2 6 0 I	M N T I N I A K N D F S D I E L A A I P F N T L A D H Y G E R L A R E Q L A L E H E S Y E M G E A R F R K M F E R Q L K A G E V A D N A A A K P L I T T L L P K M I A R I N D W F E E V K A K R G K R P T A F Q F L Q E I K P E A V A Y I T I K T T L A C L T S A D N T T V Q A V A S A I G R A I E D E A R F G R I R D L E A K H F K K N V E E Q L N K R V G H V Y K K A F M Q V V E A D M L S K G L L G G E A W S S W H K E D S I H V G V R C I E M L I E S T G M V S L H R Q N A G V V G Q D S E T I E L A P E Y A E A I A T R A G I L A G I S P M F Q P C V V P P K P W T G I T G G G Y W A N G R R P L A L V R T H S K K A L M R Y E D V Y M P E V Y K A I N I A Q N T A W K I N K K V L A V A N V I T K W K H C P V E D I P A I E R E E L P M K P E D I D M N P E A L T A W K R A A A A V Y R K D K A R K S R R I S L E F M L E Q A N K F A N H K A I W F P Y N M D W R G R V Y A V S M F N P Q G N D M T K G L L T L A K G K P I G K E G Y Y W L K I H G A N C A G V D K V P F P E R I K F I E E N H E N I M A C A K S P L E N T W W A E Q D S P F C F L A F C F E Y A G V Q H H G L S Y N C S L P L A F D G S C S G I Q H F S A M L R D E V G G R A V N L L P S E T V Q D I Y G I V A K K V N E I L Q A D A I N G T D N E V V T V T	6 5

10

20

30

40

50

T7 RN Aポリメ ラーゼバ リエ ント	アミノ酸配列	配列 番号
	DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVW TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NRVHSQDGSGLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLFAVRETM VDTYESCDVLADFDYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFafa	
A260L	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSAD NNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGQDSETIELAPEYAEAIATRAGL LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWVKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA	66

10

20

30

40

50

T7 RN Aポリメ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	AKLLAAEVKDKKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRDILESDFafa	
A260M	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGQDSETIELAPEYAEAIATRAGM LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWLVKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES	67

10

20

30

40

50

T7 RN Aポリメ ラーゼバ リエ ント	アミノ酸配列	配列 番号
	FALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDITYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAF	
A260K	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSA NTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWS SWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGK LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWYWLKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHF SAML RDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDITYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAF	68
A260Q	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD	69

10

20

30

40

50

T7 RNAポリメラーゼサブユニット	アミノ酸配列	配列番号
	HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSD NTTVQAVASAI GRAI EDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGQ LAGISPMFQPCVVP PPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHF SAML RDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAI NGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVPVWQEYKKPIQTR LNL MFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDA HKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANL FKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RDILESDFAF A	
A260E	MNTINIAKND FSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSD	70

40

T7 RNA ポリメ ラーゼバ リアン ト	アミノ酸配列	配列 番号
	NTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVR CIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGQDSETIELAPEYAEA IATRAGE LAGISPMFQPCVVP PKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAA VYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHF SAML RDEVG GRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAIN GTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTR LNL MFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDA HKQESG IAP N FVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANL FKA VRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RDILESDF AFA	
L261A	MNTINIAKND FSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLIT TLL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVR CIEMLIESTGMVSLHRQNA	71

40

T7 RN Aポリメ ーゼパリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHF SAML RDEVG GRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP N FVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANL FKA VRETM VDTYESCDVLADFDYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RDILESDFAF A	
L261M	MNTINIAKND FSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWS SWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGQDSETIELAPEYAEA IATRAGA MAGISPMFQPCVVPK PWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG	73

T7 RNA ポリメ ラーゼバ リアン ト	アミノ酸配列	配列 番号
	LLTLAKGKPIGKEGYWCLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHF SAML RDEVG GRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRNLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANL FKA VRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RDILESDFAF A	
L261K	MNTINIAKNDFS DIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVV GQDSETIELAPEYAEA IATRAGA KAGISPMFQPCVVPK PWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWCLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHF	74

T7 RN Aポリメ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFafa	
L261Q	MNTINIAKNDFSIELAaipfntlad HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSSWHKED SIHVGVRCIEMIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA QAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRVEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWCLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV	75

T7 RN Aポリメ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFBVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLKFVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAF	10
L261E	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSAD NNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA EAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRLISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWYWKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ	76

10

20

30

40

50

T7 RN Aポリメ ラーゼバ リア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFafa	
A262I	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWS SWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LIGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL	77

10

20

30

40

50

T7 RN Aポリメ ラーゼバ リア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAF	
A262L	MNTINIAKND FSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LLGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYW LKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHF SAML RDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAIN GTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKD KKTGEILRKRC AVHWV TPDGF PVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAF	78
A262M	MNTINIAKND FSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL	79

10

20

30

40

50

T7 RNA ポリメ ラーゼ パリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLT SAD NTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVR CIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LMGISPMFQPCVVP PKPWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHF SAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTR LNL MFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDA HKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANL FKAVRET M VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RDILESDFAF A	
A262K	MNTINIAKNDFS DIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLT SAD NTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKR VGHVYKKAF	80

T7 RN Aポリメ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
	MQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEML IESTGMVSLHRQNA GVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LKGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGY WANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHF SAML RDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAI NGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTR LNL MFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDA HKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWA HEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANL FKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RDILESDFAF A	
A262Q	MNTINIAKND FSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEML IESTGMVSLHRQNA GVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LQGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGY	81

T7 RNAポリメラーゼバリアント	アミノ酸配列	配列番号
	<p>WANGRRPLALVIRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA RKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIW FYPYNDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKG LLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAK SPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHF SAML RDEVG GRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQV LEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSA AKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGF PVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQ FRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP N FVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIES FALIHDSFGTIPADAANL FKA VRETM VDTYE SC DVLADFYDQFADQLHESQL DKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFA</p>	
A262E	<p>MNTINIAKND FSDIELAAIPFNTLAD HYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTL PKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSAD NTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKR VGHVYKKAF MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGQDSETIELAPEYAEAIA TRAGA LEGISPMFQPCVVP PKPWTGITGGGY WANGRRPLALVIRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVA NVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKA</p>	82

50

T 7 R N Aポリメ ラーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
E 4 5 R	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYRMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAQMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGCSCGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAF A	8 4
G 4 7 R	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMREARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAQMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGCSCGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAF A	8 5
R 2 5 7 W	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAQMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATWAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGCSCGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAF A	8 6

10

20

30

40

50

T 7 R N A ポリメ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
G 2 5 9 R	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRA <u>RA</u> LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISEFMLEQANKFANHKA ¹⁰ WIF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACA ¹⁰ KSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKFEGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAF <u>A</u>	8 7
A 2 6 0 R	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRA <u>GR</u> LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISEFMLEQANKFANHKA ²⁰ WIF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACA ²⁰ KSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKFEGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAF <u>A</u>	8 8
N 1 6 5 W	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRA <u>G</u> A LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISEFMLEQANKFANHKA ³⁰ WIF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACA ³⁰ KSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKFEGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAF <u>A</u>	8 9

10

20

30

40

50

T 7 R N A ポリメ ーゼ バリ ア ント	アミノ酸配列	配列 番号
E 1 6 7 M	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHF KKNVMEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSE TIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKG NNLNRDILESDFABA	9 0
E 1 6 7 N	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHF KKNVNEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSE TIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKG NNLNRDILESDFABA	9 1
E 1 6 8 I	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHF KKNVIEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSE TIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKG NNLNRDILESDFABA	9 2

10

20

30

40

50

T 7 R N A ポリメ ーゼ バリ ア ント	アミノ酸配列	配列 番号
E 1 6 8 T	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI K PEAVAYITIKTTLACLT S ADNTTVQAVASAI G RAI E DEARFGRIRD LEAKHF K KNVE T QLNKR V GHVYKKA F MQVVEADMLS K GLLGGEAWSSWHKED SIHVG V RCIEM L IESTGMVSLHRQ N AGVVGQDSE T IELAPEYAE A IATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPA I EREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI S LEFMLEQANKFANHKA I WF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT L AKGKPIGKEGYW L KIHGANCA GV D KVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTW W AEQDSFFCFLAFCFEYAG VQH H GLSYNCSLPLAFD G SGSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL L PSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLG T KALAGQW L AYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED T IQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC A VHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDA H KQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL R DILESDF A FA	9 3
E 1 6 8 V	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI K PEAVAYITIKTTLACLT S ADNTTVQAVASAI G RAI E DEARFGRIRD LEAKHF K KNVE V QLNKR V GHVYKKA F MQVVEADMLS K GLLGGEAWSSWHKED SIHVG V RCIEM L IESTGMVSLHRQ N AGVVGQDSE T IELAPEYAE A IATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPA I EREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI S LEFMLEQANKFANHKA I WF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT L AKGKPIGKEGYW L KIHGANCA GV D KVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTW W AEQDSFFCFLAFCFEYAG VQH H GLSYNCSLPLAFD G SGSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL L PSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLG T KALAGQW L AYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED T IQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC A VHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDA H KQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL R DILESDF A FA	9 4
A 1 8 1 F	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI K PEAVAYITIKTTLACLT S ADNTTVQAVASAI G RAI E DEARFGRIRD LEAKHF K KNVEEQLNKR V GHVYK K FFMQVVEADMLS K GLLGGEAWSSWHKED SIHVG V RCIEM L IESTGMVSLHRQ N AGVVGQDSE T IELAPEYAE A IATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPA I EREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI S LEFMLEQANKFANHKA I WF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT L AKGKPIGKEGYW L KIHGANCA GV D KVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTW W AEQDSFFCFLAFCFEYAG VQH H GLSYNCSLPLAFD G SGSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL L PSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLG T KALAGQW L AYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED T IQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC A VHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDA H KQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL R DILESDF A FA	9 5

10

20

30

40

50

T 7 R N A ポリメ ーゼバリア ント	アミノ酸配列	配列 番号
A 1 8 1 W	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTTLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKWFMQVVEADMLSKGLLGGEAWS SWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRS VTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAF A	9 6
Q 1 8 4 M	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTTLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKA FMVVEADMLSKGLLGGEAWS SWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRS VTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAF A	9 7
E 1 8 7 F	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTTLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWS SWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRS VTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAF A	9 8

10

20

30

40

50

【表 4】

表 4. T7 RNAポリメラーゼC末端バリエーション

T7 RNA Aポリメ ラーゼC末端 バリエーション	アミノ酸配列	配列 番号
S43A C末端バ リエーション	<p>MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHEAⁿYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIⁿKPEAVAYITIKTTLACLTⁿSADNTTVQAVASAIⁿGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFⁿKKNVEEQⁿLNKRVGHVYKKAⁿFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRⁿCIEMLIESTGMVSLHRQⁿNAGVVGQDSEⁿTELAPⁿEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKⁿPWTGITGGGYWANGRRPLALVⁿRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAⁿIEREELPMKP EDIDMNPⁿEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQⁿGNDMTKGLLTⁿLAKGKPIGKEGYWⁿLKIⁿHGANCA GVⁿDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSⁿPFCFLAFCFEYAG VQHⁿHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYⁿG IVAKKⁿVEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQⁿQVLEDⁿTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAⁿAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCⁿAVHWV TPDGFⁿPVWQⁿEYKKPIQⁿTRLNLMFLGQⁿFRLQPTINTNKDSEIDAⁿHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDⁿTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGⁿNLNRDILESDFAFAX</p> <p>ⁿ (Xは任意のアミノ酸であり、ⁿは任意の整数、例えば 1 ~ 5 である)</p>	107
S43A C末端バ リエーション (S 43A C 末端Gバ リエーションまたはS43A *)	<p>MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHEAⁿYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIⁿKPEAVAYITIKTTLACLTⁿSADNTTVQAVASAIⁿGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFⁿKKNVEEQⁿLNKRVGHVYKKAⁿFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRⁿCIEMLIESTGMVSLHRQⁿNAGVVGQDSEⁿTELAPⁿEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKⁿPWTGITGGGYWANGRRPLALVⁿRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAⁿIEREELPMKP EDIDMNPⁿEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQⁿGNDMTKGLLTⁿLAKGKPIGKEGYWⁿLKIⁿHGANCA GVⁿDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSⁿPFCFLAFCFEYAG VQHⁿHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYⁿG IVAKKⁿVEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQⁿQVLEDⁿTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAⁿAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCⁿAVHWV TPDGFⁿPVWQⁿEYKKPIQⁿTRLNLMFLGQⁿFRLQPTINTNKDSEIDAⁿHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDⁿTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGⁿNLNRDILESDFAFAG</p>	108

10

20

30

40

50

G 4 7 A C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMAEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAQMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEI SEVKVLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVW TPDGFPVWQYKPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSRLRKT VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	1 0 9
G 4 7 A C 末端バリ アント (G 4 7 A C 末端G バ リアントま たはG 4 7 A*)	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMAEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAQMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEI SEVKVLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVW TPDGFPVWQYKPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSRLRKT VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAG	1 1 0
R 2 5 7 A C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAQMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEI SEVKVLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVW TPDGFPVWQYKPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSRLRKT VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～ 5である)	1 1 1

10

20

30

40

50

R 2 5 7 A C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKA K RGRPTAFQ FLQEI K PEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI G RAIEDEARFGRIRD LEAKHF K KNVEEQLNKRVGHVYKKA F MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVR C IEMLIESTGMVSLHRQ N AGVVGQDSE T IELAPEYAEAIAT A AGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLANVITKWKHCPVEDI P AIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI S LEFMLEQANKFANHKA I WF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT L AKGKPIGKEGYW L KIHGANCA GV D KVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQH H GLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNNLLPSETVQDIY G IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI S EKVKLGT K ALAGQWLAY G VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED T IQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA A VEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC A VHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDA H KQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VD T YESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL R DI L ESDFAFAG	1 1 2
G 2 5 9 A C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKA K RGRPTAFQ FLQEI K PEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI G RAIEDEARFGRIRD LEAKHF K KNVEEQLNKRVGHVYKKA F MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVR C IEMLIESTGMVSLHRQ N AGVVGQDSE T IELAPEYAEAIATRA A A LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLANVITKWKHCPVEDI P AIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI S LEFMLEQANKFANHKA I WF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT L AKGKPIGKEGYW L KIHGANCA GV D KVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQH H GLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNNLLPSETVQDIY G IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI S EKVKLGT K ALAGQWLAY G VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED T IQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA A VEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC A VHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDA H KQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VD T YESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL R DI L ESDFAFAG α (\mathbf{x} は任意のアミノ酸であり、 \mathbf{n} は任意の整数、例えば 1 ~ 5 である)	1 1 3
G 2 5 9 A C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKA K RGRPTAFQ FLQEI K PEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI G RAIEDEARFGRIRD LEAKHF K KNVEEQLNKRVGHVYKKA F MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVR C IEMLIESTGMVSLHRQ N AGVVGQDSE T IELAPEYAEAIATRA A A LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLANVITKWKHCPVEDI P AIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI S LEFMLEQANKFANHKA I WF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT L AKGKPIGKEGYW L KIHGANCA GV D KVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQH H GLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNNLLPSETVQDIY G IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI S EKVKLGT K ALAGQWLAY G VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED T IQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA A VEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC A VHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDA H KQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VD T YESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL R DI L ESDFAFAG	1 1 4

10

20

30

40

50

E 4 2 A C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHASYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAQMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPTWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNELQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、 n は任意の整数、例えば 1 ~ 5 である)	1 1 5
E 4 2 A C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHASYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAQMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPTWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNELQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	1 1 6
E 4 2 I C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHISYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAQMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPTWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNELQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、 n は任意の整数、例えば 1 ~ 5 である)	1 1 7

10

20

30

40

50

E 4 2 I C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHISYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVRGHVYKKAQFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSFFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFVWQYKPKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAG	1 1 8
E 4 2 L C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHLSYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVRGHVYKKAQFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSFFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFVWQYKPKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAG n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～5である)	1 1 9
E 4 2 L C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHLSYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVRGHVYKKAQFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSFFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFVWQYKPKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAG	1 2 0

10

20

30

40

50

E 4 2 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHMSYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTTLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSDANTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVW TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX \square (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	1 2 1
E 4 2 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHMSYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTTLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSDANTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVW TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	1 2 2
E 4 2 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHKS YEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTTLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSDANTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVW TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX \square (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	1 2 3

10

20

30

40

50

E 4 2 K C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHKS _Y EMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLIT ₁ LLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIK ₁ TTLAC ₁ TSADNTTVQAVASAI ₁ GRAIEDEARFGRIRD LEAKHF ₁ KNVEEQ ₁ LNKRVGHVYK ₁ AFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVG ₁ RCIEM ₁ LIESTGMVSLHRQ ₁ NAGVVGQDSE ₁ IELAPEYAE ₁ AIATRAGA LAGISPMFQPCVVPK ₁ PWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMR ₁ YEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPA ₁ IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA ₁ IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGN ₁ DMTKGLLT ₁ LAKGKPIGKEGY ₁ WLKIHGANCA GV ₁ DKVPFPERIKFIEENHENIMACA ₁ KSPLENTWWAEQDS ₁ FFCFLAFCFEYAG VQH ₁ HGLSYNCSLPLAFD ₁ GSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL ₁ LPSETVQDIY ₁ G IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVLG ₁ TKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLED ₁ TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC ₁ AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQ ₁ TRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDA ₁ HKQESGIAP NFVHSDQDGS ₁ HLRKT ₁ VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRET ₁ M VD ₁ TYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL ₁ RDILESDFAFAG	1 2 4
E 4 2 Q C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHQS _Y EMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLIT ₁ LLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIK ₁ TTLAC ₁ TSADNTTVQAVASAI ₁ GRAIEDEARFGRIRD LEAKHF ₁ KNVEEQ ₁ LNKRVGHVYK ₁ AFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVG ₁ RCIEM ₁ LIESTGMVSLHRQ ₁ NAGVVGQDSE ₁ IELAPEYAE ₁ AIATRAGA LAGISPMFQPCVVPK ₁ PWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMR ₁ YEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPA ₁ IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA ₁ IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGN ₁ DMTKGLLT ₁ LAKGKPIGKEGY ₁ WLKIHGANCA GV ₁ DKVPFPERIKFIEENHENIMACA ₁ KSPLENTWWAEQDS ₁ FFCFLAFCFEYAG VQH ₁ HGLSYNCSLPLAFD ₁ GSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL ₁ LPSETVQDIY ₁ G IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVLG ₁ TKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLED ₁ TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC ₁ AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQ ₁ TRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDA ₁ HKQESGIAP NFVHSDQDGS ₁ HLRKT ₁ VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRET ₁ M VD ₁ TYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL ₁ RDILESDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	1 2 5
E 4 2 Q C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHQS _Y EMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLIT ₁ LLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIK ₁ TTLAC ₁ TSADNTTVQAVASAI ₁ GRAIEDEARFGRIRD LEAKHF ₁ KNVEEQ ₁ LNKRVGHVYK ₁ AFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVG ₁ RCIEM ₁ LIESTGMVSLHRQ ₁ NAGVVGQDSE ₁ IELAPEYAE ₁ AIATRAGA LAGISPMFQPCVVPK ₁ PWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMR ₁ YEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPA ₁ IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA ₁ IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGN ₁ DMTKGLLT ₁ LAKGKPIGKEGY ₁ WLKIHGANCA GV ₁ DKVPFPERIKFIEENHENIMACA ₁ KSPLENTWWAEQDS ₁ FFCFLAFCFEYAG VQH ₁ HGLSYNCSLPLAFD ₁ GSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL ₁ LPSETVQDIY ₁ G IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVLG ₁ TKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLED ₁ TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC ₁ AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQ ₁ TRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDA ₁ HKQESGIAP NFVHSDQDGS ₁ HLRKT ₁ VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRET ₁ M VD ₁ TYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL ₁ RDILESDFAFAG	1 2 6

10

20

30

40

50

S 4 3 I C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHEIYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLTPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSDANTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAQM VVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAVVGQDSEI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRVEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGCSCGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVN EILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI SEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKD KKTGEI LRKRC AVHWV TPDGFVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAX n (※は任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～5である)	1 2 7
S 4 3 I C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHEIYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLTPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSDANTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAQM VVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAVVGQDSEI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRVEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGCSCGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVN EILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI SEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKD KKTGEI LRKRC AVHWV TPDGFVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAG	1 2 8
S 4 3 L C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHELYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLTPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSDANTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAQM VVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAVVGQDSEI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRVEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGCSCGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVN EILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI SEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKD KKTGEI LRKRC AVHWV TPDGFVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAX n (※は任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～5である)	1 2 9

10

20

30

40

50

S 4 3 L C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHELYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKP EAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHF KKNVEEQ LNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	1 3 0
S 4 3 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHEMYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKP EAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHF KKNVEEQ LNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX	1 3 1
S 4 3 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHEMYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKP EAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHF KKNVEEQ LNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	1 3 2

n (* は任意のアミノ酸であり、 n は任意の整数、例えば 1 ~ 5 である)

10

20

30

40

50

S 4 3 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHEKYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAGKPIGKEGYWYWKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSFFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNELQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～5である)	1 3 3
S 4 3 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHEKYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAGKPIGKEGYWYWKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSFFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNELQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAG	1 3 4
S 4 3 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHEQYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKAQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAGKPIGKEGYWYWKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSFFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNELQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～5である)	1 3 5

10

20

30

40

50

S 4 3 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHEQYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAQMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNAAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAEREELPMKP EDIDMNPALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	1 3 6
S 4 3 E C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHEEYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAQMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNAAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAEREELPMKP EDIDMNPALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～ 5 である)	1 3 7
S 4 3 E C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHEEYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAQMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNAAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAEREELPMKP EDIDMNPALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	1 3 8

10

20

30

40

50

Y 4 4 A C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESAEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAEMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWKLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGCSCGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAX n (x は任意のアミノ酸であり、 n は任意の整数、例えば 1 ~ 5 である)	1 3 9
Y 4 4 A C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESAEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAEMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWKLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGCSCGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAG	1 4 0
Y 4 4 I C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESIEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAEMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWKLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGCSCGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAX n (x は任意のアミノ酸であり、 n は任意の整数、例えば 1 ~ 5 である)	1 4 1

10

20

30

40

50

Y 4 4 I C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESIEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQNLKRVGHVYKKAQMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWKLHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSRLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAG	1 4 2
Y 4 4 L C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESLEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQNLKRVGHVYKKAQMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWKLHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSRLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	1 4 3
Y 4 4 L C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESLEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQNLKRVGHVYKKAQMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWKLHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSRLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAG	1 4 4

10

20

30

40

50

Y 4 4 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESMEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSA DNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQ NAGVVGQDSEI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPK PWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGN DMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKS PLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI SEVKVLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAX n (x は任意のアミノ酸であり、 n は任意の整数、例えば 1 ~ 5 である)	1 4 5
Y 4 4 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESMEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSA DNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQ NAGVVGQDSEI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPK PWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGN DMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKS PLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI SEVKVLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAG	1 4 6
Y 4 4 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESKEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSA DNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQ NAGVVGQDSEI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPK PWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGN DMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKS PLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI SEVKVLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAX n (x は任意のアミノ酸であり、 n は任意の整数、例えば 1 ~ 5 である)	1 4 7

10

20

30

40

50

Y 4 4 K C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESKEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVEEQNLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSEI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL LPS ETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDA HKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKG NNLNRDILESDFAFAG	1 4 8
Y 4 4 Q C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESQEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVEEQNLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSEI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL LPS ETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDA HKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKG NNLNRDILESDFAFAX	1 4 9
Y 4 4 Q C末端バリ アント	<p> n (x は任意のアミノ酸であり、n は任意の整数、例えば 1 ~ 5 である) </p> MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESQEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVEEQNLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSEI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL LPS ETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDA HKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKG NNLNRDILESDFAFAG	1 5 0

10

20

30

40

50

Y 4 4 E C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESEEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAQFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEI SEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVW TPDGFVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAX n (\times は任意のアミノ酸であり、 n は任意の整数、例えば 1 ～ 5 である)	1 5 1
Y 4 4 E C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESEEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAQFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEI SEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVW TPDGFVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAG	1 5 2
E 4 5 A C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYAMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAQFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEI SEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVW TPDGFVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAX n (\times は任意のアミノ酸であり、 n は任意の整数、例えば 1 ～ 5 である)	1 5 3

10

20

30

40

50

E 4 5 A C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYAMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLTPKMIARINDWFEEVKAARGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVRGHVYKKAQMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAAGVVGQDSEI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKFGRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAKLLAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFVWQYKPKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFBVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	1 5 4
E 4 5 I C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYIMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLTPKMIARINDWFEEVKAARGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVRGHVYKKAQMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAAGVVGQDSEI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKFGRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAKLLAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFVWQYKPKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFBVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG n (×は任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	1 5 5
E 4 5 I C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYIMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLTPKMIARINDWFEEVKAARGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVRGHVYKKAQMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAAGVVGQDSEI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKFGRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAKLLAEVKDKKTGEILRKRCAVHWV TPDGFVWQYKPKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFBVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	1 5 6

10

20

30

40

50

E 4 5 L C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYLMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPLKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPTGTGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～ 5 である)	1 5 7
E 4 5 L C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYLMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPLKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPTGTGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAG	1 5 8
E 4 5 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYMMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPLKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPTGTGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～ 5 である)	1 5 9

10

20

30

40

50

E 4 5 M C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYMMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVEEQ LNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSFFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLNRDILESDFAFAG	1 6 0
E 4 5 K C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYKMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVEEQ LNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSFFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLNRDILESDFAFAG n (* は任意のアミノ酸であり、 n は任意の整数、例えば 1 ～ 5 である)	1 6 1
E 4 5 K C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYKMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVEEQ LNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSFFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLNRDILESDFAFAG	1 6 2

10

20

30

40

50

E 4 5 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYQMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRVGHVYKKAQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAAGVVGQDSEI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKD KKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDA HKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLNRDILESDFAFAX n (x は任意のアミノ酸であり、n は任意の整数、例えば 1 ～ 5 である)	1 6 3
E 4 5 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYQMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRVGHVYKKAQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAAGVVGQDSEI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKD KKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDA HKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLNRDILESDFAFAG	1 6 4
M 4 6 A C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEAGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRVGHVYKKAQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAAGVVGQDSEI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKD KKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDA HKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLNRDILESDFAFAX n (x は任意のアミノ酸であり、n は任意の整数、例えば 1 ～ 5 である)	1 6 5

10

20

30

40

50

M 4 6 A C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEAGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAG	1 6 6
M 4 6 I C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEIGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAG n (※は任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	1 6 7
M 4 6 I C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEIGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAG	1 6 8

10

20

30

40

M 4 6 L C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYELGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLTPKMIARINDWFEEVKAARGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDITIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFVPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～5である)	1 6 9
M 4 6 L C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYELGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLTPKMIARINDWFEEVKAARGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDITIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFVPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAG	1 7 0
M 4 6 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYELGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLTPKMIARINDWFEEVKAARGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDITIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFVPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～5である)	1 7 3

10

20

30

40

50

M 4 6 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEKGGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKA KRGRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVVEEQLNKRVRGHVYKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSE TIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIY G IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVV TPDGFVWQYKPKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAG	1 7 4
M 4 6 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEQGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKA KRGRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVVEEQLNKRVRGHVYKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSE TIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIY G IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVV TPDGFVWQYKPKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAG n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～5である)	1 7 5
M 4 6 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEQGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKA KRGRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVVEEQLNKRVRGHVYKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSE TIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIY G IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVV TPDGFVWQYKPKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAG	1 7 6

10

20

30

40

50

M 4 6 E C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEEGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAVVGQDSEI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNNLLPSETVQDIYG IVAKK VNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI SEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESC DVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLNRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～5 である)	1 7 7
M 4 6 E C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEEGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAVVGQDSEI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNNLLPSETVQDIYG IVAKK VNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI SEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESC DVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLNRDILESDFAFAG	1 7 8
G 4 7 I C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMIEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAVVGQDSEI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNNLLPSETVQDIYG IVAKK VNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI SEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESC DVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLNRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～5 である)	1 7 9

10

20

30

40

G 4 7 I C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMIEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHF KKNVEEQ LNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQ NAGVVGQDSE TIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKG NNLNRDILESDFAFAG	1 8 0
G 4 7 L C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMLEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHF KKNVEEQ LNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQ NAGVVGQDSE TIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKG NNLNRDILESDFAFAX n (* は任意のアミノ酸であり、 n は任意の整数、例えば 1 ～ 5 である)	1 8 1
G 4 7 L C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMLEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHF KKNVEEQ LNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQ NAGVVGQDSE TIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKG NNLNRDILESDFAFAG	1 8 2
G 4 7 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMMEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD	1 8 3

10

20

30

40

	LEAKHFKNVEEQNLKRVGHVYKKAQMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSFFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSRLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	
G 4 7 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDELAAPFNLTADHYGERLAREQLALEHESYEMMEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKA KRGRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQNLKRVGHVYKKAQMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSFFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSRLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAG	1 8 4
G 4 7 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDELAAPFNLTADHYGERLAREQLALEHESYEMKEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKA KRGRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQNLKRVGHVYKKAQMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSFFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSRLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～ 5である)	1 8 5
G 4 7 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDELAAPFNLTADHYGERLAREQLALEHESYEMKEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKA KRGRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQNLKRVGHVYKKAQMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSFFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSRLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNRDILESDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～ 5である)	1 8 6

10

20

30

40

50

	GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG		
G 4 7 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMQEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSE TIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPK PWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～5である)	1 8 7	10
G 4 7 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMQEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSE TIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPK PWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	1 8 8	30

10

20

30

40

50

G 4 7 E C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMEEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEI SEVKVLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKD KKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～5である)	1 8 9
G 4 7 E C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMEEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEI SEVKVLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKD KKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAG	1 9 0
R 2 5 7 I C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEI SEVKVLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKD KKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～5である)	1 9 1

10

20

30

40

R 2 5 7 I C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSE TIELAPEYAEAIAT IAGA LAGISPMFQPCVVPK PWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL LPSSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDA HKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAG	1 9 2
R 2 5 7 L C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSE TIELAPEYAEAIAT IAGA LAGISPMFQPCVVPK PWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL LPSSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDA HKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAG n (※は任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～5である)	1 9 3
R 2 5 7 L C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSE TIELAPEYAEAIAT IAGA LAGISPMFQPCVVPK PWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL LPSSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDA HKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAG	1 9 4

10

20

30

40

50

R 2 5 7 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPFAVAYITIKTTLACLTADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNAAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATMAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLKSAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVW TPDGFVPVWQYKPKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～ 5 である)	1 9 5
R 2 5 7 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPFAVAYITIKTTLACLTADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNAAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATMAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLKSAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVW TPDGFVPVWQYKPKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAG	1 9 6
R 2 5 7 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPFAVAYITIKTTLACLTADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNAAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATKAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLKSAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVW TPDGFVPVWQYKPKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～ 5 である)	1 9 7

10

20

30

40

50

R 2 5 7 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAI GRAI EDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAFTMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATKAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVN EILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFVWQYKPKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAG	1 9 8
R 2 5 7 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAI GRAI EDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAFTMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATQAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVN EILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFVWQYKPKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～5である)	1 9 9
R 2 5 7 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAI GRAI EDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAFTMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATQAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVN EILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFVWQYKPKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAG	2 0 0

10

20

30

40

50

R 2 5 7 E C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLTPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEI ELAPEYAEAIATEAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～ 5 である)	2 0 1
R 2 5 7 E C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLTPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEI ELAPEYAEAIATEAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAG	2 0 2
A 2 5 8 I C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLTPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEI ELAPEYAEAIATRIGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～ 5 である)	2 0 3

10

20

30

40

50

A 2 5 8 I C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVRGHVYKKAQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEI ELAPEYAEAIATRIGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVVT DENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFVWQYKPKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAG	2 0 4
A 2 5 8 L C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVRGHVYKKAQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEI ELAPEYAEAIATRLGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVVT DENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFVWQYKPKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAG n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～5である)	2 0 5
A 2 5 8 L C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVRGHVYKKAQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEI ELAPEYAEAIATRLGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVVT DENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFVWQYKPKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAG	2 0 6

10

20

30

40

50

A 2 5 8 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSE TIELAPEYAEAIATRMGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI SEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKCAVHWV TPDGFVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	2 0 7
A 2 5 8 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSE TIELAPEYAEAIATRMGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI SEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKCAVHWV TPDGFVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	2 0 8
A 2 5 8 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCIEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSE TIELAPEYAEAIATRKGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI SEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKCAVHWV TPDGFVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	2 0 9
A 2 5 8 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED	2 1 0

10

20

30

40

	<p>SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRKA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSQSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVMKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSGLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAG</p>	
A 2 5 8 Q C 末端バリ アント	<p>MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPFAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVVEQLNKRVGHVYKKAQFQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRQA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSQSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVMKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSGLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAG</p> <p>n (※は任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～ 5 である)</p>	2 1 1
A 2 5 8 Q C 末端バリ アント	<p>MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPFAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVVEQLNKRVGHVYKKAQFQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAAGVVGQDSETIELAPEYAEAIATRQA LAGISPMFQPCVVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWYWLKIHGANC GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSQSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVMKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSGLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAG</p>	2 1 2

10

20

30

40

50

A 2 5 8 E C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATREGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAGKPIGKEGYWYWLKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSGLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	2 1 3
A 2 5 8 E C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATREGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAGKPIGKEGYWYWLKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSGLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAG	2 1 4
G 2 5 9 I C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAIA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAGKPIGKEGYWYWLKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSGLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	2 1 5

10

20

30

40

50

G 2 5 9 I C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHF KKNVEEQ LNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQ NAGVVGQDSE TI ELAPEYAEAIATRAIA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI SEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAG	2 1 6
G 2 5 9 L C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHF KKNVEEQ LNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQ NAGVVGQDSE TI ELAPEYAEAIATRALA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI SEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAG n (×は任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～5である)	2 1 7
G 2 5 9 L C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHF KKNVEEQ LNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQ NAGVVGQDSE TI ELAPEYAEAIATRALA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI SEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAG	2 1 8

10

20

30

40

50

G 2 5 9 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVVEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQ NAGVVGQDSE TI ELAPEYAEAIATRAMA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACA KSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEI SEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAX n (×は任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～5である)	2 1 9
G 2 5 9 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVVEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQ NAGVVGQDSE TI ELAPEYAEAIATRAMA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACA KSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEI SEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAG	2 2 0
G 2 5 9 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVVEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQ NAGVVGQDSE TI ELAPEYAEAIATRAKA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACA KSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEI SEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAX n (×は任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～5である)	2 2 1

10

20

30

40

50

G 2 5 9 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHF KKNVEEQ LNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVR CIEMLIESTGMVSLHRQ NAGVVGQDSE TIELAPEYAEAIATRAKA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEI SEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	2 2 2
G 2 5 9 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHF KKNVEEQ LNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVR CIEMLIESTGMVSLHRQ NAGVVGQDSE TIELAPEYAEAIATRAQA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEI SEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX n (※は任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～5である)	2 2 3
G 2 5 9 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHF KKNVEEQ LNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVR CIEMLIESTGMVSLHRQ NAGVVGQDSE TIELAPEYAEAIATRAQA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEI SEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	2 2 4

10

20

30

40

50

G 2 5 9 E C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLTPKMIARINDWFEEVKA KRGRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHF KKNVEEQ LNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQ NAGVVGQDSE TIELAPEYAEAIATRAEA LAGISPMFQPCVVPK PWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC A GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIY G IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEI SEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKD KKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVPWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKG NNLNRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ~ 5 である)	2 2 5
G 2 5 9 E C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLTPKMIARINDWFEEVKA KRGRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHF KKNVEEQ LNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQ NAGVVGQDSE TIELAPEYAEAIATRAEA LAGISPMFQPCVVPK PWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC A GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIY G IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEI SEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKD KKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVPWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKG NNLNRDILESDFAFAG	2 2 6
A 2 6 0 I C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLTPKMIARINDWFEEVKA KRGRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHF KKNVEEQ LNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQ NAGVVGQDSE TIELAPEYAEAIATRA GI LAGISPMFQPCVVPK PWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANC A GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIY G IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEI SEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKD KKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVPWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKG NNLNRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ~ 5 である)	2 2 7

10

20

30

40

50

A 2 6 0 I C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPLKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGI LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVW TPDGFVPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	2 2 8
A 2 6 0 L C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPLKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGL LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVW TPDGFVPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	2 2 9
A 2 6 0 L C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPLKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGL LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVW TPDGFVPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKT VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	2 3 0

10

20

30

40

50

A 2 6 0 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHF KKNVEEQLNKR VGHVYKKA FMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVR CIEMLIESTGMVSLHRQ NAGVVGQDSE TI ELAPEYAEAIATRAGM LAGIS PMFQPCVVPK PWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACA KSPLENTWWAEQD SPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL LPSETVQDIYG IVAKK VNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI SEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRNLMLFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAX n (※は任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～5 である)	2 3 1
A 2 6 0 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHF KKNVEEQLNKR VGHVYKKA FMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVR CIEMLIESTGMVSLHRQ NAGVVGQDSE TI ELAPEYAEAIATRAGM LAGIS PMFQPCVVPK PWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACA KSPLENTWWAEQD SPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL LPSETVQDIYG IVAKK VNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI SEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRNLMLFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAG	2 3 2
A 2 6 0 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHF KKNVEEQLNKR VGHVYKKA FMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVR CIEMLIESTGMVSLHRQ NAGVVGQDSE TI ELAPEYAEAIATRAGK LAGIS PMFQPCVVPK PWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKI HGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACA KSPLENTWWAEQD SPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL LPSETVQDIYG IVAKK VNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI SEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQEYKKPIQTRNLMLFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAX n (※は任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～ 5 である)	2 3 3

10

20

30

40

50

A 2 6 0 K C末端バリ アント	MNTINIAKND FSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTTLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHF KKNVEEQ LNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVR CIEMLIESTGMVSLHRQ NAGVVGQDSE TIELAPEYAEAIATRAGK LAGISPMFQPCVVPK PWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGN DMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHG ANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQD SPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEI SEKVKLGTKALAGQW LAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKD KKTGEILRKRC AVHWV TPDGF PVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAG	2 3 4
A 2 6 0 Q C末端バリ アント	MNTINIAKND FSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTTLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHF KKNVEEQ LNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVR CIEMLIESTGMVSLHRQ NAGVVGQDSE TIELAPEYAEAIATRAGQ LAGISPMFQPCVVPK PWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGN DMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHG ANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQD SPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEI SEKVKLGTKALAGQW LAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKD KKTGEILRKRC AVHWV TPDGF PVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	2 3 5
A 2 6 0 Q C末端バリ アント	MNTINIAKND FSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTTLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHF KKNVEEQ LNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVR CIEMLIESTGMVSLHRQ NAGVVGQDSE TIELAPEYAEAIATRAGQ LAGISPMFQPCVVPK PWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGN DMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHG ANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQD SPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEI SEKVKLGTKALAGQW LAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKD KKTGEILRKRC AVHWV TPDGF PVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAG	2 3 6

10

20

30

40

A 2 6 0 E C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKA KRGRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQ NAGVVGQDSE TI ELA PEYAEAIAT RAGE LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI SEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～5である)	2 3 7
A 2 6 0 E C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKA KRGRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQ NAGVVGQDSE TI ELA PEYAEAIAT RAGE LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI SEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	2 3 8
L 2 6 1 A C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKA KRGRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAIGRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQ NAGVVGQDSE TI ELA PEYAEAIAT RAGA AAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI SEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～5である)	3 7

10

20

30

40

50

L 2 6 1 A C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAQFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA AAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVW TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAG	2 3 9
L 2 6 1 I C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAQFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA IAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVW TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～ 5 である)	2 4 0
L 2 6 1 I C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAQFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA IAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVW TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAG	2 4 1

10

20

30

40

50

L 2 6 1 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTLTPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRVGHVYKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA MAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	2 4 2
L 2 6 1 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTLTPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRVGHVYKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA MAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	2 4 3
L 2 6 1 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAKPLITTLTPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRVGHVYKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAVVGQDSETIELAPEYAEAIATRAGA KAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	2 4 4

10

20

30

40

50

L 2 6 1 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA KAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAKLLAAEVKD KKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANL FKA VRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKG NNLNRDILESDFAFAG	2 4 5
L 2 6 1 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA QAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAKLLAAEVKD KKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANL FKA VRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKG NNLNRDILESDFAFAX n (※は任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～ 5 である)	2 4 6
L 2 6 1 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA QAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQNDMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAKLLAAEVKD KKTGEILRKRC AVHWV TPDGFVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANL FKA VRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKG NNLNRDILESDFAFAG	2 4 7

10

20

30

40

50

L 2 6 1 E C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTTLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAQMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA EAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRVEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFVWQYKPKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ~ 5 である)	2 4 8
L 2 6 1 E C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTTLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAQMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA EAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRVEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFVWQYKPKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAG	2 4 9
A 2 6 2 I C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTTLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAQMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LIGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRVEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFVWQYKPKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ~ 5 である)	2 5 0

10

20

30

40

A 2 6 2 I C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPLKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAI EDEARFGRI RD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKAFMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA LLIGISPMFQPCVPPKFWTGTITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACA KSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI SEKVLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKD KKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAG	2 5 1
A 2 6 2 L C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPLKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAI EDEARFGRI RD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKAFMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA LLIGISPMFQPCVPPKFWTGTITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACA KSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI SEKVLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKD KKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～5である)	2 5 2
A 2 6 2 L C末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPLKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAI EDEARFGRI RD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKAFMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA LLIGISPMFQPCVPPKFWTGTITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACA KSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI SEKVLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKD KKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAG	2 5 3

10

20

30

40

50

A 2 6 2 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSDANTTVQAVASAI GRAI EDEARFGRI RD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSE TIELAPEYAEAIATRAGA LMGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSFFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL LPS ETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～5である)	2 5 4
A 2 6 2 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSDANTTVQAVASAI GRAI EDEARFGRI RD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSE TIELAPEYAEAIATRAGA LMGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSFFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL LPS ETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAG	2 5 5
A 2 6 2 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSDANTTVQAVASAI GRAI EDEARFGRI RD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSE TIELAPEYAEAIATRAGA LKGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSFFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL LPS ETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～5である)	2 5 6

10

20

30

40

50

A 2 6 2 K C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAQM VVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LKGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL LPSSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEI SEKVKLGT KALAGQW LAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKG NNLNRDILESDFAFAG	2 5 7
A 2 6 2 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAQM VVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LQGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL LPSSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEI SEKVKLGT KALAGQW LAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKG NNLNRDILESDFAFAG n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)	2 5 8
A 2 6 2 Q C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAQM VVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LQGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL LPSSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEI SEKVKLGT KALAGQW LAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKG NNLNRDILESDFAFAG	2 5 9
A 2 6 2 E C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ	2 6 0

10

20

30

40

50

	<p>FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LEGISPMFQPCVVPK PWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAX</p> <p>※ (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)</p>	
A 2 6 2 E C 末端バリ アント	<p>MNTINIAKNDFS DIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LEGISPMFQPCVVPK PWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAG</p>	2 6 1
S 4 3 R C 末端バリ アント	<p>MNTINIAKNDFS DIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHE<u>RY</u>EMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPK PWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPA IEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSCSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAX</p> <p>※ (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)</p>	2 6 2

10

20

30

40

50

S 4 3 R C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHE RY EMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACA KSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL LPSSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKD KKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAG	2 6 3
E 4 5 R C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHE SY RMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACA KSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL LPSSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKD KKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAG	2 6 4
E 4 5 R C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHE SY RMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKAFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACA KSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL LPSSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKD KKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAG	2 6 5

n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1～5である)

10

20

30

40

50

G 4 7 R C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMREARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSE TIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL L PSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI SEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLNRDILESDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ~ 5 である)	2 6 6
G 4 7 R C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMREARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSE TIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL L PSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI SEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLNRDILESDFAFAG	2 6 7
R 2 5 7 W C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKKNVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSE TIELAPEYAEAIATWAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL L PSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEI SEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLNRDILESDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ~ 5 である)	2 6 8

10

20

30

40

50

R 2 5 7 W C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQNLNKRVGHVYKKAFFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATWAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACA KSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDI LESDFAFAG	2 6 9
G 2 5 9 R C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQNLNKRVGHVYKKAFFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACA KSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDI LESDFAFAX n (×は任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば1 ～5である)	2 7 0
G 2 5 9 R C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQNLNKRVGHVYKKAFFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACA KSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDI LESDFAFAG	2 7 1

10

20

30

40

50

A 2 6 0 R C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPLKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI K PEAVAYITIKTTLACLT S ADNTTVQAVASAI G RAIED E ARFGRIRD LEAKHF K KNVEEQ L NKRVGHVYKKA F MQVVEADMLS G L L GG E AWSS W H K ED SIHVG V RCIEM L IE S TGMVSLHRQ N AGVVGQDSE T IELAPEYAE A IATRAG R LAGISPMFQPCVVPK P WTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI S LEFMLEQANKFANHKA I WF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT L AKGKPIGKEGYW L KIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACA K SPLENTWWAEQDS P FCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD G SCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVD E NTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQ V LED T IQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLKSA A KLLAAEVKDKKTGEILRKRC A VHWV TPDGF P VWQ E YKKPIQTRLNLMFLGQ F R L QPTINTNKDSEIDA H KQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VD T YESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL R DI E SDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、 n は任意の整数、例えば1～5である)	2 7 2
A 2 6 0 R C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPLKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI K PEAVAYITIKTTLACLT S ADNTTVQAVASAI G RAIED E ARFGRIRD LEAKHF K KNVEEQ L NKRVGHVYKKA F MQVVEADMLS G L L GG E AWSS W H K ED SIHVG V RCIEM L IE S TGMVSLHRQ N AGVVGQDSE T IELAPEYAE A IATRAG R LAGISPMFQPCVVPK P WTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI S LEFMLEQANKFANHKA I WF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT L AKGKPIGKEGYW L KIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACA K SPLENTWWAEQDS P FCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD G SCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVD E NTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQ V LED T IQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLKSA A KLLAAEVKDKKTGEILRKRC A VHWV TPDGF P VWQ E YKKPIQTRLNLMFLGQ F R L QPTINTNKDSEIDA H KQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VD T YESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL R DI E SDFAFAG	2 7 3
N 1 6 5 W C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPLKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI K PEAVAYITIKTTLACLT S ADNTTVQAVASAI G RAIED E ARFGRIRD LEAKHF K KNVEEQ L NKRVGHVYKKA F MQVVEADMLS G L L GG E AWSS W H K ED SIHVG V RCIEM L IE S TGMVSLHRQ N AGVVGQDSE T IELAPEYAE A IATRAGA LAGISPMFQPCVVPK P WTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI S LEFMLEQANKFANHKA I WF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT L AKGKPIGKEGYW L KIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACA K SPLENTWWAEQDS P FCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD G SCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVD E NTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQ V LED T IQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLKSA A KLLAAEVKDKKTGEILRKRC A VHWV TPDGF P VWQ E YKKPIQTRLNLMFLGQ F R L QPTINTNKDSEIDA H KQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VD T YESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL R DI E SDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、 n は任意の整数、例えば1～5である)	2 7 4

10

20

30

40

50

N 1 6 5 W C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKKWVEEQLNKRVGHVYKKAFFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAAL AGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVYM PEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKPE DIDMNP EALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF YNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCAG VDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAGV QHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL LPSETVQDIYGI VAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYGV TRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGYM AKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWVT PDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEI DAHKQESGIAPN FVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETMV DTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAG	2 7 5
E 1 6 7 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKKNVMEQLNKRVGHVYKKAFFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCAG VDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL LPSETVQDIYGI IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEI DAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ~ 5 である)	2 7 6
E 1 6 7 M C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKKNVMEQLNKRVGHVYKKAFFMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYWLKIHGANCAG VDKVPFFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL LPSETVQDIYGI IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEI DAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAG	2 7 7

10

20

30

40

50

E 1 6 7 N C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVNEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSE TI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAA VYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGCSCGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKD KKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAX n (×は任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1～5である)	2 7 8
E 1 6 7 N C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVNEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSE TI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAA VYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGCSCGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKD KKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAG	2 7 9
E 1 6 8 I C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVIEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSE TI ELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNP EALTAWKRAAAA VYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGCSCGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKD KKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAX n (×は任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1～5である)	2 8 0

10

20

30

40

50

E 1 6 8 I C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTTLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI K PEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI G RAIEDEARFGRIRD LEAKHF K KNVEIT Q LNKRVGHVYKKA F MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVR C IEMLIESTGMVSLHRQ N AGVVGQDSE T IELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPK P WTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA I WF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GV D KVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD G SGSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL L PSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQW L AYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED T IQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVA A VEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC A VHWV TPDGFPVWQEYK K PIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDA H KQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VD T YESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL R DILESDFAFAG	2 8 1
E 1 6 8 T C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTTLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI K PEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI G RAIEDEARFGRIRD LEAKHF K KNVEIT Q LNKRVGHVYKKA F MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVR C IEMLIESTGMVSLHRQ N AGVVGQDSE T IELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPK P WTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA I WF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GV D KVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD G SGSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL L PSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQW L AYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED T IQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVA A VEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC A VHWV TPDGFPVWQEYK K PIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDA H KQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VD T YESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL R DILESDFAFAX n (xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～ 5 である)	2 8 2
E 1 6 8 T C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTTLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI K PEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI G RAIEDEARFGRIRD LEAKHF K KNVEIT Q LNKRVGHVYKKA F MQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVR C IEMLIESTGMVSLHRQ N AGVVGQDSE T IELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPK P WTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA I WF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GV D KVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD G SGSGIQHFSAMLRDEVGGRVNL L PSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQW L AYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED T IQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVA A VEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC A VHWV TPDGFPVWQEYK K PIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDA H KQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VD T YESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL R DILESDFAFAG	2 8 3

10

20

30

40

50

E 1 6 8 V C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAI GRAI EDEARFGRIRD LEAKHF KKNVEVQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSE TIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPK PWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～5である)	2 8 4
E 1 6 8 V C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAI GRAI EDEARFGRIRD LEAKHF KKNVEVQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSE TIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPK PWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAG	2 8 5
A 1 8 1 F C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLT SADNTTVQAVASAI GRAI EDEARFGRIRD LEAKHF KKNVEEQLNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLS KGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSE TIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPK PWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFD GSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVT DENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVA AVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGS HLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNL RDILESDFAFAX n (Xは任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～ 5である)	2 8 6

10

20

30

40

50

A 1 8 1 F C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTTLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTTACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKK ⁿ FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRLSLEFMLEQANKFANHKAIF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAGKPIGKEGYWLLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSQSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVW TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAG	2 8 7
A 1 8 1 W C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTTLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTTACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKK ⁿ FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRLSLEFMLEQANKFANHKAIF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAGKPIGKEGYWLLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSQSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVW TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAG ⁿ (xは任意のアミノ酸であり、 ⁿ は任意の整数、例えば1～5である)	2 8 8
A 1 8 1 W C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSIELAAPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTTLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEPAVAYITIKTTTACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKK ⁿ FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRLSLEFMLEQANKFANHKAIF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTLAGKPIGKEGYWLLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGSQSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVW TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAG	2 8 9

10

20

30

40

50

Q 1 8 4 M C 末端バリ アント	<p>MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEAVAYITIKTTLACLTSAADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAFFMMMVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGCSCGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKFGRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAX</p> <p>n (×は任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～ 5 である)</p>	2 9 0
Q 1 8 4 M C 末端バリ アント	<p>MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEAVAYITIKTTLACLTSAADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAFFMMMVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGCSCGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKFGRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAG</p>	2 9 1
E 1 8 7 F C 末端バリ アント	<p>MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEAVAYITIKTTLACLTSAADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVVEEQLNKRVGHVYKKAFFMMMVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGCSCGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKFGRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAX</p> <p>n (×は任意のアミノ酸であり、nは任意の整数、例えば 1 ～ 5 である)</p>	2 9 2

10

20

30

40

50

E 1 8 7 F C 末端バリ アント	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHF KKNVEEQ LNKRVGHVYKKA FMQVVFADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEI SEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAG	2 9 3
T 7 R N A ポリメ ーゼ C 末端 バリエ ント (C 末端 G)	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHF KKNVEEQ LNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEI SEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAG G	2 9 4
T 7 R N A ポリメ ーゼ C 末端 (C 末端 A)	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEI KPEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHF KKNVEEQ LNKRVGHVYKKA FMQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNA GVVGDSETIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVPPKPWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRISLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGS CSGIQHFSAMLRDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEI SEKVKLGT KALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLED TIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRC AVHWV TPDGFPVWQ EYKKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSDGSHLRKTVVWAHEKYGIESFALIHDSFGTI PADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNNLRDILESDFAFAA	2 9 5

10

20

30

40

50

T 7 R N A ポリメラ ーゼ C 末端 バリエーション (C 末端 A)	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVEEQNLKRVGHVYKKAQMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGCSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVW TPDGFVPVWQYKPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSRLRKT VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAA A	2 9 6
G 4 7 A C 末端バリエーション (C 末端 G)	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVEEQNLKRVGHVYKKAQMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGCSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVW TPDGFVPVWQYKPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSRLRKT VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAG G	2 9 7
G 4 7 A C 末端バリエーション (C 末端 A)	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMGEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITTLPLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEAVAYITIKTTLACLTSADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRI RD LEAKHFKNVEEQNLKRVGHVYKKAQMVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEMLIESTGMVSLHRQNAAGVVGQDSEITIELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDI PAIEREELPMKP EDIDMNPALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRI SLEFMLEQANKFANHKA IWF PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLT LAKGKPIGKEGYW LKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGCSCSGIQHFSAMLRDEVGGRVNLPLSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVTDENTGEISEKVKLGTKALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHVW TPDGFVPVWQYKPKIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSRLRKT VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAA A	2 9 8

10

20

30

40

G 4 7 A C 末端バリ アント (C 末端 A A)	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHESYEMAEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEAVAYITIKTTLACLTSAADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRLSLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGCSCGIQHFSAAML RDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKPKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSRLRKT VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAA A	2 9 9
S 4 3 A / G 4 7 A	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHEAYEMAEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEAVAYITIKTTLACLTSAADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRLSLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGCSCGIQHFSAAML RDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKPKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSRLRKT VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAA	3 0 0
S 4 3 A / G 4 7 A C 末端バリ アント (C 末端 G)	MNTINIAKNDFSDIELAAIPFNTLADHYGERLAREQLALEHEAYEMAEARFR KMFERQLKAGEVADNAAAKPLITLLPKMIARINDWFEEVKAKRGKRPTAFQ FLQEIKEAVAYITIKTTLACLTSAADNTTVQAVASAI GRAIEDEARFGRIRD LEAKHFKNVEEQLNKRVGHVYKKAQVVEADMLSKGLLGGEAWSSWHKED SIHVGVRCEIEMLIESTGMVSLHRQNAAGVVGQDSEITELAPEYAEAIATRAGA LAGISPMFQPCVVPKPKWTGITGGGYWANGRRPLALVRTHSKKALMRYEDVY MPEVYKAINIAQNTAWKINKKVLAVANVITKWKHCPVEDIPAIEREELPMKP EDIDMNPEALTAWKRAAAAVYRKDKARKSRRLSLEFMLEQANKFANHKAIFW PYNMDWRGRVYAVSMFNPQGNMTKGLLTAKGKPIGKEGYWLKIHGANCA GVDKVPFPERIKFIEENHENIMACAKSPLENTWWAEQDSPFCFLAFCFEYAG VQHHGLSYNCSLPLAFDGCSCGIQHFSAAML RDEVGGRAVNLLPSETVQDIYG IVAKKVNEILQADAINGTDNEVVTVDENTGEISEKVKLGTALAGQWLAYG VTRSVTKRSVMTLAYGSKEFGFRQQVLEDTIQPAIDSGKGLMFTQPNQAAGY MAKLIWESVSVTVVAAVEAMNWLKSAAKLLAAEVKDKKTGEILRKRCVHWV TPDGFPVWQYKPKPIQTRLNLMFLGQFRLQPTINTNKDSEIDAHKQESGIAP NFVHSQDGSRLRKT VVWAHEKYGIESFALIHDSFGTIPADAANLFKAVRETM VDTYESCDVLADFYDQFADQLHESQLDKMPALPAKGNLNLRLDILESDFAFAG	3 0 1

【 0 3 3 5 】

実施例 2 . T 7 RNA ポリメラーゼバリエーションを使用して生成された h E P O mRNA の純度は、野生型 T 7 RNA ポリメラーゼを使用して生成された h E P O mRNA の純度に匹敵する。

h E P O DNA 鋳型、ならびに (1) 野生型 (W T) T 7 RNA ポリメラーゼ (W T # 1 及び W T # 2)、(2) G 4 7 A C 末端 G T 7 RNA ポリメラーゼバリエーション (「 G 4 7 A * 」) (配列番号 1 1 0)、及び (3) S 4 3 A C 末端 G T 7 RNA ポリメラーゼバリエーション (「 S 4 3 A * 」) (配列番号 1 0 8) を使用して、インビトロ転写反応を行った。D B A A (ジブチルアンモニウムアセテート) H P L C 分析は、すべて

の h E P O 転写物の純度がほぼ同じであったことを示した (図 1) 。

【 0 3 3 6 】

実施例 3 . T 7 R N A ポリメラーゼバリエーションを使用して生成された h E P O m R N A は、細胞サイトカイン応答を示さない。

B J 線維芽細胞を、実施例 2 に記載される I V T 反応により生成された h E P O m R N A でトランスフェクトした。m R N A を、精製しないか、または逆相 (R P) クロマトグラフィーにより精製した。図 2 (左のグラフ) に示されるように、S 4 3 A * T 7 R N A ポリメラーゼバリエーションまたは G 4 7 A * T 7 R N A ポリメラーゼバリエーションを使用して生成された精製されていない m R N A は、W T T 7 ポリメラーゼを使用して生成された精製された m R N A と同程度に「コールド (c o l d) 」 (サイトカイン応答を示さなかった) であった。ほぼ同等の m R N A 発現レベルを、図 2 (右のグラフ) に示す。これらの実験で使用された m R N A は、いずれのヌクレオチド修飾も含まなかった。

10

【 0 3 3 7 】

m¹ ヌクレオチド修飾 (図 3、上のグラフ) または m o⁵ U ヌクレオチド修飾 (図 3、下のグラフ) のいずれかを含む h E P O m R N A を使用して、同様の細胞トランスフェクションアッセイを繰り返した。G 4 7 A * 及び S 4 3 A * T 7 R N A ポリメラーゼバリエーションを使用して生成された精製されていない m¹ h E P O m R N A でトランスフェクトされた B J 線維芽細胞は、W T T 7 R N A ポリメラーゼを使用して生成された精製されていない m¹ h E P O m R N A でトランスフェクトされた細胞より低い I F N 応答を示した。ほぼ同等の m R N A 発現レベルを、図 4 に示す。

20

【 0 3 3 8 】

次いで、単球由来マクロファージ (M D M) を使用して、さらにサイトカイン応答を試験した。I P 1 0 対ヒポキサンチン - グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (H P R T) の比を、実施例 2 に記載される条件下で生成された h E P O m R N A でトランスフェクトされた M D M で測定した。M D M は、非修飾化学に対して非常に感受性であるため、試料間の強烈な違いは、非修飾 h E P O m R N A を使用して見られなかった。しかしながら、G 4 7 A * 及び S 4 3 A * T 7 R N A ポリメラーゼバリエーションを使用して生成された精製されていない m¹ h E P O m R N A でトランスフェクトされた M D M は、W T T 7 R N A ポリメラーゼを使用して生成された精製された m¹ h E P O m R N A でトランスフェクトされた M D M より低い I P 1 0 応答を示した (図 5、上のグラフ) 。

30

【 0 3 3 9 】

実施例 4 . T 7 R N A ポリメラーゼバリエーションは、W T T 7 R N A ポリメラーゼよりも少ない混入 d s R N A に関連する m R N A を生成する。

標準 d s R N A E L I S A を使用して、非修飾 h E P O m R N A (図 7) または m¹ ヌクレオチド修飾 (図 8、上のグラフ) もしくは m o⁵ U ヌクレオチド修飾 (図 8、下のグラフ) のいずれかを含む h E P O m R N A を生成するために使用される I V T 反応における d s R N A 混入物 (例えば、4 0 ヌクレオチド塩基対よりも長い) を評価した。d s R N A アッセイは、S 4 3 A * T 7 R N A ポリメラーゼバリエーション及び G 4 7 A * T 7 R N A ポリメラーゼバリエーションが、W T T 7 R N A ポリメラーゼよりも少ない d s R N A を生成したことを示した (図 7 及び図 8) 。

40

【 0 3 4 0 】

実施例 5 . T 7 R N A ポリメラーゼバリエーションは、m R N A の 3' 不均一性を低減する。

転写物の 3' 不均一性は、R N A s e T 1 消化を使用して測定することができる。R N A s e T 1 は、G ヌクレオチドの後に m R N A を特異的に切断する。エンドヌクレオチド切断は、5' 水酸化物 (O H) 及び 3' - リン酸 (m P) 「瘢痕」をもたらす。したがって、R N A s e T 1 消化は、3' 末端で銲型のない付加を有する及び有さない転写物を区別するために使用され得る。この実施例では、実施例 2 で生成された h E P O m R N A は、ポリ A テール及び X b a I 制限部位 (例えば、A_n U C U A G) で終了する。

50

WT T7 RNAポリメラーゼを使用して生成されたhEPO mRNA、S43A* T7 RNAポリメラーゼバリエーション、またはG47A* T7 RNAポリメラーゼバリエーションを、RNAse T1で消化し、LCMSによって分析して、オリゴフィンガープリントを生成した。均質な3'末端(5'OH/3'OH)は、32780Daでピークに達することが見出されたが、一方で、「癍痕」(5'OH/3'mP)は、32860Daでピークに達した(図9A)。「癍痕」は、転写物が、カルボキシ末端で銑型のない付加を有したことを示す。T7 RNAポリメラーゼバリエーションを使用して生成されたhEPO mRNA、S43A*、またはG47A*は、より高い3'末端集団分布を有し、それらがより均質な3'末端及び改善された3'末端不均一性を有することを示す(図9B)。

10

【0341】

実施例6。「より均質な」3'末端を生成するT7 RNAポリメラーゼバリエーションアッセイを使用して、T7 RNAPバリエーション、G47A*、及びS43A*によって生成された銑型のない付加の程度を調べた。このアッセイでは、酵素ポリメラーゼを使用してライゲーションレフトマーを作製した(例えば、図11Aを参照のこと)。次いで、レフトマーを、5'-モノリン酸化ライトマーRNAにすぐ隣接する完全に相補的なDNAスプリントにアニーリングした。DNAスプリントは、典型的には、40nt長であり、ライトマーは、典型的には、5'末端においてフルオロフォアで修飾される。次いで、DNAリガーゼIを、触媒条件下で添加し、反応がEDTAでクエンチされる前に、所望の反応時間の間、ライゲーションを進めた。次いで、混合物を、変性ポリアクリルアミドゲル(PAGE-D)に充填される前に、95℃で5分間4Mの尿素中で変性した(図11B)。ゲル中のアクリルアミドのパーセンテージは、予想される構築物の長さによるが、典型的には、>50ntのレフトマー長については6%アクリルアミド、及び典型的なmRNAの長さにアプローチするレフトマーについては20%アクリルアミドである。6%アクリルアミドゲルを、一定の180Vで25分間実行し、20%アクリルアミドゲルを、一定の180Vで120分間実行した。次いで、ゲルを、ライトマー及び新しくライゲーションされた産物に存在するフルオロフォアに適切な励起波長及び発光波長を使用してTyphoonまたは同様のスキャナーで画像化した。ライトマー及びライゲーションされた産物は、サイズに基づくゲル上で異なって移動し、2つのバンドの強度は、ライゲーション反応の効率に正確に対応するであろう。レフトマーの酵素合成の間の銑型のないヌクレオチド付加の程度がより大きいほど、予想されるライゲーション収量はより低い。

20

30

【0342】

ライゲーション収量を、ライゲーションされていないライトマー及びライゲーションされた完全長産物に対応するバンドの比率として計算した。反応を、反応収量の差を誇張するために早く終了した。これらの結果に基づいて、T7 RNAPバリエーション G47A*は、レフトマーRNAの3'末端で最も少ない銑型のないヌクレオチドを組み込んだ。

【0343】

実施例7. 単回インビトロ転写反応におけるキャップされたmRNAの生成

標準インビトロ転写(IVT)アッセイでは、T7 RNAポリメラーゼは、5' GTPで転写を開始することが好ましい。そのような標準IVTアッセイによって生成された一本鎖RNA(ssRNA)分子は、別々の酵素キャッピングステップを必要とする(図13)。例えば、キャップ1 RNA(7mGpppN2'-OM-RNA)は、ワクシニアキャッピング及び2'-O-メチルトランスフェラーゼ(2'OMTase)を使用してキャッピングアッセイにおいて生成され得る。キャップ1は、典型的には、細胞における効率的なタンパク質翻訳及びmRNA安定性のために使用される。しかしながら、いくつかのmRNA配列は、キャッピングすることが難しく、キャッピング/メチル化酵素は、非常に高価である。

40

【0344】

本開示は、いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるT7 RNAポリメラーゼバリエーション(例えば、T7 RNAポリメラーゼバリエーションG47A*)を使用したイン

50

ピトロ転写アッセイにおいて、ssRNA（例えば、mRNA）を共転写で、トリヌクレオチドでキャッピングする方法を提供する。効率的な共転写キャッピングには、通常、5' ATPならびに等モル濃度のNTP及びトリヌクレオチドを用いて転写を開始する二本鎖DNA（dsDNA）鋳型が含まれる。通常、T7 RNAポリメラーゼは、5' ATPを用いると開始活性が著しく低下した。しかしながら、XAG（Xは任意のヌクレオチド、例えば、5' mGpppである）トリヌクレオチドの存在下で、5' ATPを用いたT7 RNAポリメラーゼの限定された開始活性は、5' ATPではなくトリヌクレオチドで開始が推進され、キャップされたmRNAを共転写で生成する。

【0345】

例示的な市販のジ-及びトリヌクレオチドキャップを、図14Aに示す。ワクシニアキャップ1は、典型的なジ-ヌクレオチドキャップであり、共転写で添加することができない。共転写で添加され得る別のジ-ヌクレオチドキャップは、抗逆方向キャップ類似体（Anti-Reverse Cap Analog）（ARCA）であり、また市販されている（例えば、Thermo Fisherから、カタログ番号：AM8045）。ARCAは、3' OH基（m⁷Gに近接する）が-OCH₃で置き換えられる修飾されたキャップ類似体である。ARCAを、この研究において記載される共転写キャッピングアッセイのいくつかにおいて対照として使用する。

【0346】

共転写キャッピングアッセイでは、ヒトEPO（hEPO）DNA鋳型を使用した。5 mMのトリヌクレオチドありまたはなしで5 mM NTPもまたアッセイ混合物に存在した（mGpppAG、mGmpppAG、及びARCA）。非修飾mRNA産物を、RNase HキャップアッセイまたはLCMSによって分析した。表5に示されるように、野生型（WT）T7 RNAポリメラーゼ及びT7 RNAポリメラーゼバリエーションG47A*は、均等に高い効率で完全にキャップされたmRNAを生成することができた。RNA収量は、異なるIVT反応（図14B）の中でも匹敵し、高度の完全性を有するmRNA産物が生成された（図14C）。

【表5】

表5. WT T7 RNAポリメラーゼまたはT7 RNAポリメラーゼバリエーションG47A*のキャッピング効率

T7 RNAポリメラーゼ	トリヌクレオチド	キャッピング効率 (%)
WT	—	0.0
T7 RNAポリメラーゼバリエーションG47A*	—	0.0
WT	m ⁷ GpppAG	93.9
T7 RNAポリメラーゼバリエーションG47A*	m ⁷ GpppAG	100.0
WT	m ⁷ GpppAG	100.0
T7 RNAポリメラーゼバリエーションG47A*	m ⁷ GpppAG	100.0

【0347】

mRNA産物の免疫刺激活性を、BJ線維芽細胞におけるサイトカイン（IFN γ ）生成を誘発するそれらの能力を評価することによって評価した。興味深いことに、WT T7 RNAポリメラーゼは、高いサイトカイン応答を誘発した非修飾mRNAを生成したが、一方で、T7 RNAポリメラーゼバリエーションG47A*は、BJ線維芽細胞においてサ

イトカイン生成を刺激しなかった非修飾 mRNA を生成し (図 1 4 D)、I V T / キャッピングアッセイの後に RNA をさらに精製する必要性を最小化した。mRNA 産物からの h E P O 発現もまた評価した。h E P O 発現を、W T T 7 RNA ポリメラーゼによって生成された mRNA から観察したが、一方で、T 7 RNA ポリメラーゼバリエーション G 4 7 A * によって生成された mRNA は、ワクシニアキャップ 1 でキャップされた 1 - メチル - シュードウリジンで修飾された mRNA に匹敵する h E P O 発現をもたらした (図 1 4 E)。L C M S 実験はまた、トリヌクレオチド組み込み効率は 2 つの酵素と同等であるように思われたが、T 7 RNA ポリメラーゼバリエーション G 4 7 A * が、W T T 7 RNA ポリメラーゼより均質な RNA を生成したことを示す (図 1 5)。

【 0 3 4 8 】

異なる実験では、T 7 RNA ポリメラーゼバリエーション G 4 7 A * のキャッピング効率を、ワクシニアキャップ 1 を使用する標準キャッピングアッセイにおいて達成された効率と比較した。この実験では、反応混合物は、鋳型鎖上の + 1 位でデオキシチミジンを含む h E P O d s DNA 鋳型 (第 1 の鋳型のあるヌクレオチドについては「A s t a r t」とも命名される)、T 7 RNA ポリメラーゼバリエーション G 4 7 A *、ならびに等モル (7 . 5 m M) N T P 及び G A G トリヌクレオチドを含んだ。得られる mRNA 産物を、オリゴ d T を使用して精製し、キャッピング効率、インビトロサイトカイン応答、及びインビトロ発現について分析した。結果は、T 7 RNA ポリメラーゼバリエーション G 4 7 A * が、標準キャッピングプロセスと比較できる程に高い効率でキャップされた mRNA を生成し (表 6)、mRNA は、B J 線維芽細胞においてサイトカイン応答を誘発せず (図 1 6 A)、mRNA は、B J 線維芽細胞において高い h E P O 発現をもたらす (図 1 6 B) ことを示す。

【 表 6 】

表 6 . 共転写キャッピング及び標準プロセスのキャッピング効率

キャップ同一性	機能性キャップ%
キャップなし	0
G A G (ワンポット)	9 6 . 0
ワクシニアキャップ 1 (+ R P)	9 9 . 8

【 0 3 4 9 】

要約すると、T 7 RNA ポリメラーゼバリエーション G 4 7 A * は、X A G トリヌクレオチド (例えば、G A G または G m A G) の存在下で、鋳型鎖の 3' - d T T P で転写を効率的に開始することができることを本明細書に示された。アッセイにおいて N T P として等モル濃度を条件として、トリヌクレオチドは、免疫応答を刺激しない完全にキャップされた mRNA を生成するために共転写で添加され、高タンパク質発現をもたらす (図 1 7)。

【 0 3 5 0 】

実施例 8 . 5 G T P (G s t a r t) または 5' - A T P (A s t a r t) での転写開始の比較

実施例 7 に記載される共転写キャッピングアッセイを使用して、転写開始が 5' - G T P (G s t a r t) または 5' - A T P (A s t a r t) を必要とするモデル構築物へのキャッピング効率を比較した。5' U T R 及び 4 7 - m e r RNA オリゴヌクレオチドをコードするモデル構築物を、I V T の鋳型として使用した。全 RNA 産物を、質量分析によって評価し、結果は、A s t a r t 構築物が、G s t a r t 構築物と比較して G A G または G m A G トリヌクレオチドをより効率的に組み込むことを示す (図 1 8 A)。データはここでは示されていないが、C s t a r t 及び U s t a r t 構築物が少量のキャッ

ブされた生成物を生成したこともまた観察された。

【0351】

さらに、RNA産物を、RNase H切断させ、RNA産物の切断された5'末端を、質量分析を使用して分析し、キャップの存在を判定した。同様の結果を全RNA産物のものとして得た(図18B)。

【0352】

図18A及び図18Bで使用されるモデル構築物を使用して、トリヌクレオチド滴定実験もまた行った。共転写キャッピングアッセイでは、5 mMのNTP(A、等モル比で修飾されたU、G、C)を使用した。一方、トリヌクレオチド(GAGまたはGmAG)の濃度は、変化し、NTP及びトリヌクレオチドの異なるモル比でキャッピング効率を評価した。次いで、粗RNA産物をLC-MSによって分析した。結果は、NTP及びトリヌクレオチドが、GAG及びGmAGの両方について等モル比であるときに、キャッピング効率が最も高いことを示す(表7)。

【表7】

表7. トリヌクレオチド滴定

トリヌクレオチド濃度 (mM)	キャップ% (GAG)	キャップ% (GmAG)
5 (EQ)	96.0	88.3
4	92.8	85.6
3	90.3	82.8
2	81.7	74.5
1	66.1	57.0
0.5	42.5	48.6
0	0	0

【0353】

実施例9. 1-メチル-シュードウリジンで化学修飾されたmRNAのキャッピング
1-メチル-シュードウリジンで化学修飾されたmRNAの共転写キャッピングもまた評価した。3つのモデル構築物を使用した: hEPO、Luc(ルシフェラーゼをコードする)、及びeGFP。すべてのIVT鑄型は、Astart鑄型であった。鑄型は、PCR断片またはプラスミドであり得る。キャッピングアッセイ反応混合物は、鑄型、T7 RNAポリメラーゼバリエーションG47A*、7.5 mMのNTP、及び7.5 mMのトリヌクレオチド(GAGまたはGmAG)を含んだ。NTP中のUTPを、1-メチルシュードウリジンで置き換えて、化学修飾されたmRNAを生成した。ワクシニアキャップ1を、標準キャッピングアッセイにおいて生成対照として使用した。mRNA産物を、RNase Hキャップアッセイ、T1フィンガープリンティング、及びフラグメントアナライザーを使用して分析し、それらの完全性を判定した。サイトカイン応答を誘発すること及びBJ線維芽細胞においてコードされたタンパク質を発現することにおけるmRNA産物の能力もまた試験した。

【0354】

表8に示されるように、PCR断片から生成されたすべての3つのモデル構築物の1-メチル-シュードウリジンで化学修飾されたmRNAは、効率的にキャップされ、キャッピング効率は、ワクシニアキャップ1対照に匹敵した。化学Aは、非修飾ウリジン三リン酸ヌクレオチドの使用を示し、化学Bは、1-メチル-シュードウリジン三リン酸ヌクレオチドの使用を示す。化学Cは、5-メチル-シチジン三リン酸及び1-メチル-シュードウリジン三リン酸ヌクレオチドを示す。プラスミド鑄型から生成された1-メチル-シュードウリジンで化学修飾されたmRNAについて同様の結果を得た(表9)。さらに、

R N a s e T 1 フィンガープリンティング分析は、P C R 断片鋳型を使用してモデル構築物から生成されたm R N Aが、正しい配列のものであったことを示した（図 1 9 A）。P C R 断片鋳型（図 1 9 B）またはプラスミド鋳型（図 2 0 C）のいずれかから生成されたm R N Aもまた、高度の完全性を有することを示した。P C R 断片鋳型ならびにプラスミド鋳型から生成されたキャップされたm R N Aは、B J 線維芽細胞においていずれのサイトカイン発現も誘発しなかった（図 1 9 C、図 2 0 D）。さらに、プラスミド鋳型から生成されたm R N Aは、B J 線維芽細胞においてコードされたタンパク質の発現をもたらした（図 2 0 E ~ 図 2 0 G）。G A G キャップされたm R N Aの発現レベルは、わずかにより高いか、ワクシニアキャップ 1 対照m R N Aからの発現レベルに匹敵するか、またはそれよりもわずかに低かった。

【表 8】

表 8. 1-メチル-シュードウリジンで化学修飾されたm R N Aのキャッピング効率—P C R 断片鋳型

構築物	キャップ	キャップ%（報告された%）
h E P O	キャップなし	0
h E P O	キャップ 1（ワクシニア）	99.8（n/a）
h E P O	G A G（トリヌクレオチド）	96.1
h E P O	G m A G（トリヌクレオチド）	94.9
L u c	キャップなし	0
L u c	キャップ 1（ワクシニア）	85.7（100%）
L u c	G A G（トリヌクレオチド）	94.4
L u c	G m A G（トリヌクレオチド）	93.3
e G F P	キャップなし	0
e G F P	キャップ 1（ワクシニア）	99.4（88%）
e G F P	G A G（トリヌクレオチド）	93.8
e G F P	G m A G（トリヌクレオチド）	94.9

【表 9】

表 9. 1-メチル-シュードウリジンで化学修飾された mRNA のキャッピング効率—
プラスミド鋳型

構築物	キャップ	キャップ% (報告された%)
h E P O	キャップなし	0
h E P O	キャップ 1 (ワクシニア)	99.8 (n/a)
h E P O	G A G (トリヌクレオチド)	96.4
h E P O	G m A G (トリヌクレオチド)	96.3
L u c	キャップなし	0
L u c	キャップ 1 (ワクシニア)	85.7 (100%)
L u c	G A G (トリヌクレオチド)	95.7
L u c	G m A G (トリヌクレオチド)	99.6
e G F P e g d	キャップなし	0
e G F P d e g	キャップ 1 (ワクシニア)	92.1 (n/a)
e G F P d e g	G A G (トリヌクレオチド)	94.3
e G F P d e g	G m A G (トリヌクレオチド)	92.1

【0355】

共転写キャッピングアッセイにおける NTP 消費もまた、モデル構築物 h E P O (図 20A) 及び e G F P (図 20B) についてプラスミド鋳型を使用する反応を評価した。結果は、G A G 及び G m A G が、アッセイの期間 (2 時間) にわたってほとんど消費されなかったことを示す。これは、アッセイにおけるトリヌクレオチドの濃度が極端に超過していたという事実と一貫している。アッセイが完了した後にトリヌクレオチドを回収することが可能であり得る。

【0356】

実施例 10. RNA 収量に影響を与える T7 RNA ポリメラーゼ C 末端での置換

G 4 7 A * ポリメラーゼは、翻訳されたタンパク質の C 末端で余分なグリシン (「フットグリシン」) を含む。フットグリシンの存在を、トリプシン消化及び精製された G 4 7 A * タンパク質の質量分析によって確認した (データには示されていない)。G 4 7 A * の C 末端フット領域の役割を、G 4 7 A * の活性部位に対するその近接のために、より詳細に試験した。

【0357】

インビトロ転写 (I V T) 反応を、h E P O DNA 鋳型、ならびに (1) 野生型 (W T) T7 RNA ポリメラーゼ (W T)、(2) フットグリシンを有する W T T7 RNA ポリメラーゼ (W T + G)、(3) 2 つのフットグリシンを有する W T T7 RNA ポリメラーゼ (W T + G G)、(4) 2 つのフットアラニンを含む野生型 RNA ポリメラーゼ (W T + A A)、(5) G 4 7 A T7 RNA ポリメラーゼバリエント、(6) フットグリシンを有する G 4 7 A * T7 RNA ポリメラーゼバリエント (G 4 7 A + G)、(7) 2 つのフットグリシンを有する G 4 7 A T7 RNA ポリメラーゼバリエント (G 4 7 A + G G)、(8) 2 つのフットアラニンを含む G 4 7 A T7 RNA ポリメラーゼバリエント (G 4 7 A + A A)、(9) S 4 3 A / G 4 7 A T7 RNA ポリメラーゼバリエント (S 4 3 A / G 4 7 A)、及び (10) フットグリシンを有する S 4 3 A / G 4 7 A T7 RNA ポリメラーゼバリエント (S 4 3 A / G 4 7 A + G) を使用して行った。I V T 反応混合物は、h E P O DNA 鋳型、上に列挙される T7 RNA ポリメラー

ゼバリアントのうちの1つ、及びNTPを含んだ。非修飾化学を有するIVT反応(図22)を、標準NTP(ATP、CTP、GTP、UTP)で行ったが、一方で、シュードウリジン修飾(m1)化学を有するIVT反応(図23)は、UTPの代わりに1-メチルシュードウリジンを含み、化学修飾されたmRNAを生成した。RNA収量を、UV吸収によって測定した。

【0358】

hEPO mRNA収量は、WTまたはG47A*バリアントT7 RNAポリメラーゼのいずれかにおいてフットグリシンの存在とともに減少した(図22及図23)。mRNA収量は、WT T7 RNAポリメラーゼよりもG47A*でのより少ない減少があったが、2つのフットグリシンまたは2つのフットアラニン残基のいずれかとともに減少し続けた。

10

【0359】

実施例11. 3'-mRNA不均一性へのT7 RNAポリメラーゼフットグリシンの影響

実施例5のように、フットグリシンを有するWTまたはG47A* T7 RNAPを使用して生成されたhEPO mRNAを、RNase T1で消化し、LCMSによって分析して、オリゴフィンガープリントを生成した。WT T7 RNAP IVT反応を、NTPの等モル濃度(WT EQ)またはGTP及びATP(WTアルファ(A))のモル過剰のいずれかで行った。LCMS分析は、均質な3'末端(5'OH/3'OH)は、32780Daでピークに達し、「瘢痕」(5'OH/3'mP)は、32860Daでピークに達することを明らかにした(図24A)。「瘢痕」は、転写物が、3'末端で鑄型のない付加を有したことを示す。WT T7 RNAP及びNTPの等モル濃度(WT EQ)を使用して生成されたhEPO mRNAは、3'末端集団分布を減少し、減少された3'均一性及び鑄型のない付加を有するより多くのランオン生成物を示す(図24B)。しかしながら、フットグリシンを有するG47A* T7 RNAPを使用して生成されたhEPO mRNAは、より高い3'末端集団分布を有し、それらはより均質な3'末端を有し、3'末端の不均一性を改善したことを示す(図24B)。

20

【0360】

hEPO 3'mRNA均一性へのT7 RNAPフット領域の影響を直接試験するために、IVT反応を、hEPO DNA鑄型、ならびに(1)野生型T7 RNAP(WT)、(2)フットグリシンを有するWT T7 RNAP(WT+G)、(3)2つのフットグリシンを有するWT T7 RNAP(WT+GG)、(4)2つのフットアラニンを有する野生型T7 RNAP(WT+AA)、(5)G47A T7 RNAPバリアント、(6)フットグリシンを有するG47A* T7 RNAPバリアント(G47A+G)、(7)2つのフットグリシンを有するG47A T7 RNAPバリアント(G47A+GG)、(8)2つのフットアラニンを有するG47A T7 RNAPバリアント(G47A+AA)、(9)S43A/G47A T7 RNAPバリアント(S43A/G47A)、及び(10)フットグリシンを有するS43A/G47A T7 RNAPバリアント(S43A/G47A+G)を使用して行った。IVT反応混合物は、hEPO DNA鑄型、上に列挙されるT7 RNAPバリアントのうちの1つ、及び等モルNTPを含んだ。IVT反応を行い、それは、非修飾mRNA(図24C)またはシュードウリジン修飾されたmRNA(図24D)のいずれかを生成した。hEPO mRNAを、実施例5及び上記のようにRNase T1で消化した。フットグリシンの存在は、hEPO mRNA 3'末端の均一性を60%増加させた(図24C~図24D)。T7 RNAPにおける、2つのフットグリシンまたは2つのアラニンもまた、WTまたはG47A T7 RNAPにわたって3'末端の均一性を60~70%改善した(図24C及び図24D)。これらの結果は、T7 RNAP中の単一のフットグリシンの存在が、図24Bに観察される3'末端均一性を増加させることができることを示す。

30

40

【0361】

実施例12. 免疫刺激へのT7 RNAPフットグリシンの影響

50

h E P O mRNA生成物への免疫応答を刺激することにおけるT7 RNA Pフットグリシンの役割は、実施例7のように、B J線維芽細胞におけるサイトカイン(I F N)生成を誘発するそれらの能力を評価することによって評価した。興味深いことに、W T T7 RNA P生成された非修飾及びシュードウリジン修飾h E P O mRNAが、高いサイトカイン応答を誘発したが、一方で、フットグリシン生成された非修飾及びシュードウリジン修飾h E P O mRNAを有するW T T7 RNA Pは、B J線維芽細胞においてより少ないサイトカイン生成を刺激した(図25)。フットグリシンを有するG 4 7 A *バリエーションT7 RNA Pによって生成されたh E P O mRNAは、B J線維芽細胞においてサイトカイン生成を刺激することをしそびれて、免疫応答を誘発しそびれることにおいてフットグリシン及びG 4 7 A T7 RNAポリメラーゼバリエーションの間の相加的効果を示す(図25)。

10

【0362】

実施例13. mRNA生成へのT7 RNAポリメラーゼフットグリシンの影響

アッセイを開発して、W T及びG 4 7 AバリエーションT7 RNA Pによって生成されたh E P O mRNA種へのフットグリシン残基の効果を調べた。試験されたT7 RNA Pは、以下の通りであった。(1) W T + G (フットグリシン)、(2) G 4 7 Aバリエーション、または(3) G 4 7 Aバリエーション + G (G 4 7 A *バリエーション)。I V T反応は、列挙されるT7 RNA Pのうちの1つ、s h O R F a n 鋳型、N T P (非修飾または修飾されたU T Pのいずれか)、及び³²P - C T Pを含んだ。反応を、所望の長さの時間の後にE D T Aで終了した。次いで、反応混合物を、変性ポリアクリルアミドゲル(20% アクリルアミド)に充填される前に、95 で5分間4 Mの尿素中で変性した(図26A)。ゲルを20ワットで30分間、次いで40ワットで2時間実行した。画像を、T y p h o o n スキャナーを使用する画像化の前にホスフォイメージャースクリーンに移動した(1時間の露光時間)。³²P - C T Pの使用は、完全長生成物(s h O R F a n mRNAを示す)、ランオン転写生成物(上の箱)(図26A)、及び逆相補mRNA産物(図26A、下の箱)を標識する。結果はまた、以下の表10に要約される。これらのデータは、フットグリシンを有するT7 RNA Pが、W TまたはG 4 7 A T7 RNA Pのいずれかより少ない混入d s RNAに関連することを示す(図26A(下の箱)及び図26B)。さらに、フットグリシンは、W TまたはG 4 7 AバリエーションT7 RNA Pと比較して、減少されたランオン転写(図26A(上の箱)、図26B)と関連する。

20

30

【表10】

表10. 逆相補(RC): 完全長(F L) mRNA比

変異体	RC : F L	完全長 (G 4 7 A + G と比較)
W T + G (非修飾mRNA)	—	0. 3
G 4 7 A (非修飾mRNA)	0. 1 6	1
G 4 7 A + G (G 4 7 A *) (非修飾mRNA)	—	1
W T + G (シュードウリジンmRNA)	—	0. 2
G 4 7 A (シュードウリジンmRNA)	0. 1 8	1. 2
G 4 7 A + G (シュードウリジンmRNA)	—	1

40

【0363】

50

実施例 14 . ホタルルシフェラーゼをコードするトリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * m R N A の繰り返し投与の評価

インビトロ転写 m R N A は、典型的には、例えば、逆相クロマトグラフィー (R P) に
よって精製され、サイトカイン誘発不純物 (d s R N A) 及びプロセス不純物 (例えば、
タンパク質 / D N A) を除去し、全 R N A 純度を改善する。しかしながら、この精製プロ
セスはしばしば、m R N A 産物の著しい喪失をもたらす。R P を排除することは、ターン
アラウンドタイムを低減し、大規模に動作及び操作複雑性を排除し、費用を節約する。さ
らに、R P 中に使用される高温度が、m R N A の画分を加水分解することができるため、
R P を排除することは、m R N A 発現レベルを増加させる。したがって、R P の必要性を
排除するために m R N A 産物及び精製戦略を開発した。この実施例に提供される方法によ
って生成された m R N A は、「トリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * m R N A 」
と称され、それは、G 4 7 A * T 7 R N A P バリエーション (G 4 7 A 置換及び追加の C 末
端 G を有する) を使用するインビトロ転写アッセイにおいてトリヌクレオチド G p p p A
2 O m e p G で共転写でキャップされている m R N A である。

【 0 3 6 4 】

この実施例では、ホタルルシフェラーゼ (f f L u c) をコードする m R N A の単回の
0 . 5 m p k 用量を、M C 3 脂質ナノ粒子中に配合し、6 週間 (1 日目、8 日目、1 5 日
目、2 2 日目、2 9 日目、及び 3 6 日目に) C 5 7 B 1 / 6 マウス (n = 5) に毎週投与
した。以下の m R N A を投与した。(1) N T P の等モル濃度の存在下で野生型 T 7 ポリ
メラーゼを使用して生成され、オリゴ d T 精製によって精製された非修飾 m R N A (化学
A プロセス 1 d T)、(2) G T P / A T P の過剰濃度の存在下で野生型 T 7 ポリメ
ラーゼを使用して生成され、逆相クロマトグラフィーによって精製されたシュードウリジン
修飾 m R N A (化学 B プロセス 2 R P)、(3) G T P / A T P の過剰濃度の存在下で
野生型 T 7 ポリメラーゼを使用して生成され、オリゴ d T 精製によって精製されたシュ
ードウリジン修飾 m R N A (化学 B プロセス 2 d T)、(4) N T P の等モル濃度の存在
下で野生型 T 7 ポリメラーゼを使用して生成され、オリゴ d T 精製によって精製されたシュ
ードウリジン修飾 m R N A (化学 B プロセス 1 d T)、(5) 逆相クロマトグラフィー
によって精製されたシュードウリジン修飾トリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A *
m R N A (G 4 7 A * T 7 R N A P バリエーションを使用してキャップ及び生成されたトリ
ヌクレオチド) (化学 B プロセス 3 R P)、(6) オリゴ d T 精製によって精製された
シュードウリジン修飾トリヌクレオチドキャップ G 4 7 A * m R N A (化学 B プロセス 3
d T)、ならびに (7) G 4 7 A * T 7 R N A P バリエーションを使用して生成され、オリ
ゴ d T 精製によって精製されたキャップされていないシュードウリジン修飾 m R N A (化
学 B プロセス 4 d T))。各用量後 6 時間、以下を評価した：血清サイトカインレベル
、m R N A 発現、及び抗 - P E G I g M レベル。B 細胞活性化を、3 6 日目の用量後 6
時間評価した。化学 A は、非修飾ウリジン三リン酸ヌクレオチドの使用を示し、化学 B は
、1 - メチル - シュードウリジン三リン酸ヌクレオチドの使用を示す。プロセス 1 は、I
V T 及びワクシニアキャップ 1 における等モル N T P を指し、プロセス 2 は、4 : 2 : 1
： 1 の G T P : A T P : C T P : U T P (その全体が参照により本明細書に組み込まれる
、2 0 1 8 年 3 月 2 2 日に公開された W O 2 0 1 8 / 0 5 3 2 0 9 A 1 を参照のこと)
及びワクシニアキャップ 1 を含む I V T を指し、プロセス 3 は、I V T における等モル N
T P 及び G A G を指し、プロセス 4 は、I V T 及びキャップなしにおける等モル N T P を
指す。

【 0 3 6 5 】

1 日目及び 2 9 日目のマウスにおける血清サイトカイン評価 (I P - 1 0) からの結果
を、図 2 7 A 及び図 2 7 B に表し、トリヌクレオチドキャップされた G 4 7 A * m R N
A が、インビボで血清サイトカインレベルを誘発し、アルファ m R N A 対照と同様である
ことを示す。結果は、m R N A が、B J ヒト線維芽細胞 (図 2 8 A) 及び単球由来マクロ
ファージ (M D M) (図 2 8 B) に送達されたインビトロ実験について同様であった。

【 0 3 6 6 】

10

20

30

40

50

mRNA発現研究(図29)は、トリヌクレオチドキャップされたG47A* mRNAが、6回の隔週用量後にインビボで高い発現を維持したことを示した。

【0367】

抗-PEG IgM評価(図30)は、N1UトリヌクレオチドキャップされたG47A* mRNAが、6回の隔週用量後に低い抗-PEG IgMレベル生成したことを示した。

【0368】

B細胞活性化分析(図31)は、トリヌクレオチドキャップされたG47A* mRNAでトランスフェクトされた脾臓B細胞の活性化が低く、アルファmRNA対照と同様であったことを示した。

【0369】

まとめると、これらの結果は、RP精製されていないffLucをコードするトリヌクレオチドキャップされたG47A* mRNAが、ベースラインを超えてサイトカイン応答を誘発せず、インビボで低い抗-PEG IgMレベルを維持し、低いB細胞活性化を呈することを示す。

【0370】

実施例15. ヒトエリスロポエチンをコードするトリヌクレオチドキャップされたG47A* mRNAの繰り返し投与の評価

この実施例では、ヒトエリスロポエチン(hEPO)をコードするmRNAの単回の0.5mpk用量を、MC3脂質ナノ粒子中に配合し、6週間(1日目、8日目、15日目、22日目、29日目、及び36日目に)C57BL/6マウス(n=5)に毎週投与した。以下のmRNAを投与した。(1)NTPの等モル濃度の存在下で野生型T7ポリメラーゼを使用して生成され、オリゴdT精製によって精製された非修飾mRNA(化学Aプロセス1 dT)、(2)GTP/ATPの過剰濃度の存在下で野生型T7ポリメラーゼを使用して生成され、逆相クロマトグラフィーによって精製されたシュードウリジン修飾mRNA(化学Bプロセス2 RP)、(3)GTP/ATPの過剰濃度の存在下で野生型T7ポリメラーゼを使用して生成され、オリゴdT精製によって精製されたシュードウリジン修飾mRNA(化学Bプロセス2 dT)、(4)NTPの等モル濃度の存在下で野生型T7ポリメラーゼを使用して生成され、オリゴdT精製によって精製されたシュードウリジン修飾mRNA(化学Bプロセス1 dT)、(5)逆相クロマトグラフィーによって精製されたシュードウリジン修飾トリヌクレオチドキャップされたG47A* mRNA(G47A* T7 RNAPバリエーションを使用してキャップ及び生成されたトリヌクレオチド)(化学Bプロセス3 RP)、(6)オリゴdT精製によって精製されたシュードウリジン修飾トリヌクレオチドキャップG47A* mRNA(化学Bプロセス3 dT)、ならびに(7)G47A* T7 RNAPバリエーションを使用して生成され、オリゴdT精製によって精製されたキャップされていないシュードウリジン修飾mRNA(化学Bプロセス4 dT)。各用量後6時間、以下を評価した:血清サイトカインレベル、mRNA発現、及び抗-PEG IgMレベル。B細胞活性化を、36日目の用量後6時間評価した。化学Aは、非修飾ウリジン三リン酸ヌクレオチドの使用を示し、化学Bは、1-メチル-シュードウリジン三リン酸ヌクレオチドの使用を示す。プロセス1は、IVT及びワクシニアキャップ1における等モルNTPを指し、プロセス2は、4:2:1:1のGTP:ATP:CTP:UTP及びワクシニアキャップ1を含むIVTを指し、プロセス3は、IVTにおける等モルNTP及びGAGを指し、プロセス4は、IVT及びキャップなしにおける等モルNTPを指す。

【0371】

1日目及び22日目のマウスにおける血清サイトカイン評価(IP-10)からの結果を、図32A及び図32Bに表し、トリヌクレオチドキャップされたG47A* mRNAが、インビボで血清サイトカインレベルを誘発し、アルファmRNA対照と同様であることを示す。結果は、mRNAが、BJヒト線維芽細胞(図33A)及び単球由来マクロファージ(MDM)(図33B)に送達されたインビトロ実験について同様であった。

10

20

30

40

50

【0372】

mRNA発現研究(図34)は、トリヌクレオチドキャップされたG47A* mRNAが、6回の隔週用量後にインビボで高い発現を維持したことを示した。

【0373】

抗-PEG IgM評価(図35)は、トリヌクレオチドキャップされたG47A* mRNAが、6回の隔週用量後に低い抗-PEG IgMレベル生成したことを示した。

【0374】

B細胞活性化分析(図36)は、トリヌクレオチドキャップされたG47A* mRNAでトランスフェクトされた脾臓B細胞の活性化が低く、アルファmRNA対照と同様であったことを示した。

【0375】

まとめると、これらの結果は、RP精製されていないhEPOをコードするトリヌクレオチドキャップされたG47A* mRNAが、ベースラインを超えてサイトカイン応答を誘発せず、インビボで低い抗-PEG IgMレベルを維持し、低いB細胞活性化を呈することを示す。

【0376】

実施例16．インデル頻度及び点変異頻度の評価

mRNAを、プロセス1(等モルNTP)またはプロセス2(4:2:1:1のGTP:ATP:CTP:UTP)を使用してWTまたはG47A*酵素のいずれかで調製した。次世代シーケンシング(NGS)について、mRNAを、逆転写酵素によってcDNAに変換し、アダプターをライゲーションしてシーケンシングライブラリを準備した。NGSデータを、親配列と比較し、観察された任意のインデルを表にした。インデル頻度は、WT及びG47A*に匹敵した(図37A)。同様に、NGSデータを、任意の点変異について分析した。点変異頻度は、WT及びG47A*に匹敵した(図37B)。

【0377】

本明細書に開示されるすべての参考文献、特許、及び特許出願は、各々が示される主題に関して参照により組み込まれ、いくつかの場合において、それは書類の全体を包含し得る。

【0378】

明細書及び特許請求の範囲において本明細書で使用されるように、不定冠詞「a」及び「an」は、明らかに矛盾する記載がない限り、「少なくとも1つ」を意味するものとして理解されるべきである。

【0379】

明らかに矛盾する記載がない限り、1を超えるステップまたは行為を含む本明細書に請求されるあらゆる方法において、方法のステップまたは行為の順番は、方法のステップまたは行為が言及されているその順番に必ずしも限定されない。

【0380】

特許請求の範囲、ならびに上の明細書において、「含む(comprising)」、「含む(including)」、「有する(carrying)」、「有する(having)」、「含む(containing)」、「含む(involving)」、「有する(holding)」、「から構成される(composed of)」などのすべての移行句は、無制限、すなわち、含むが限定されないと意味すると理解されたい。「からなる」及び「から本質的になる」の移行句のみが、the United States Patent Office Manual of Patent Examining Procedures, Section 2111.03に示されるように、それぞれ閉鎖または半閉鎖的移行句であるものとする。

10

20

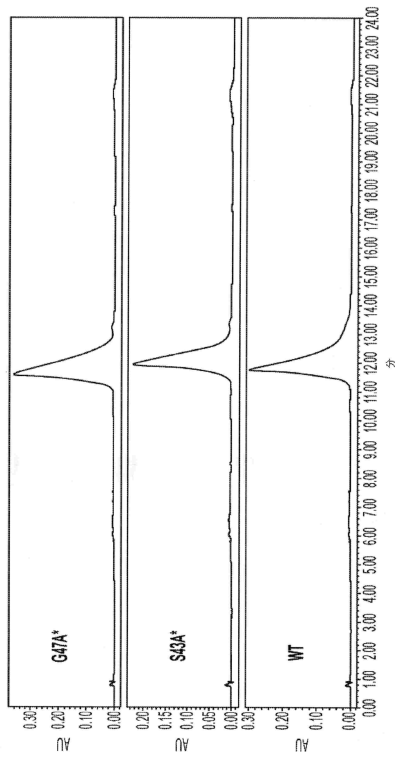
30

40

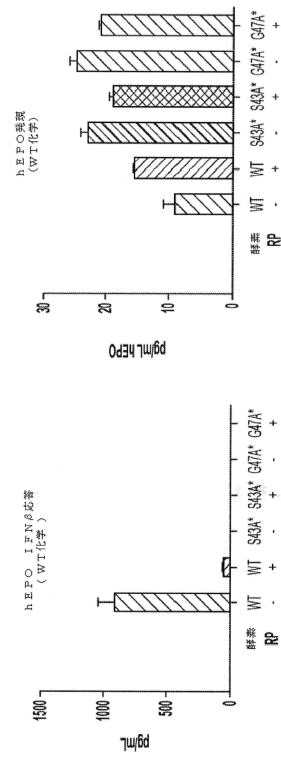
50

【図面】

【図 1】



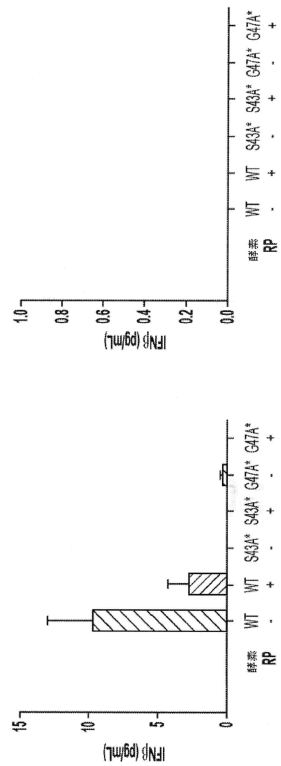
【図 2】



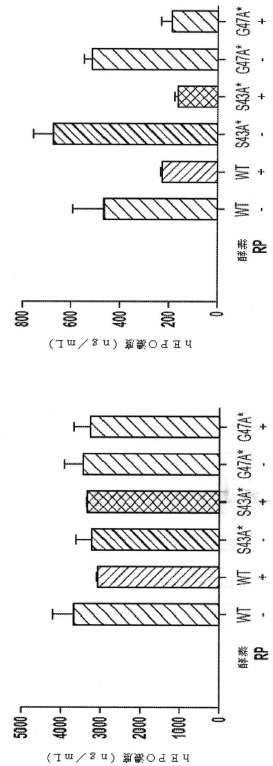
10

20

【図 3】



【図 4】

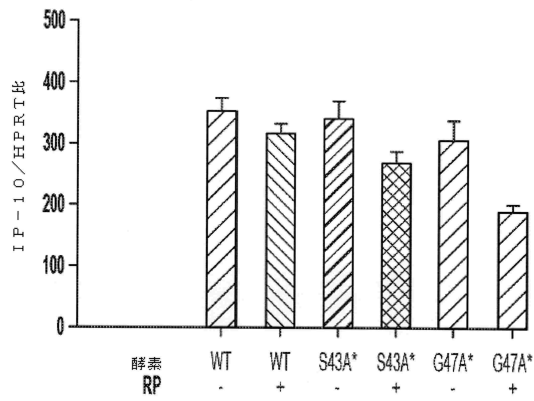


30

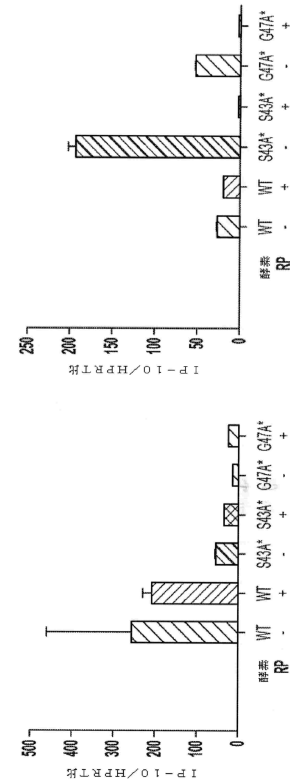
40

50

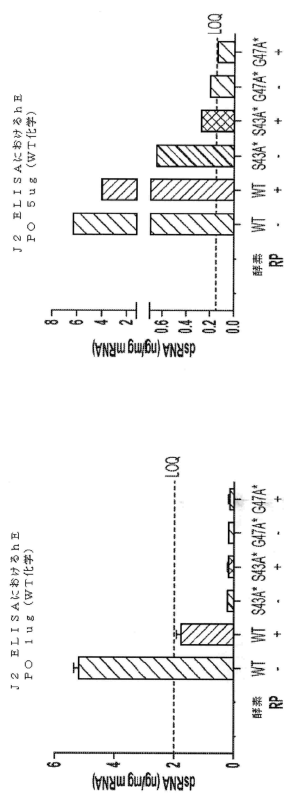
【図 5】



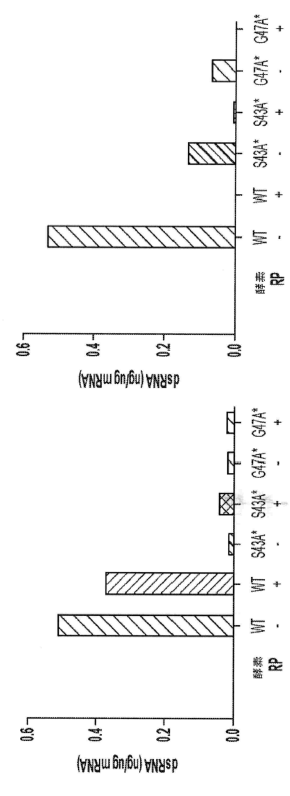
【図 6】



【図 7】



【図 8】



10

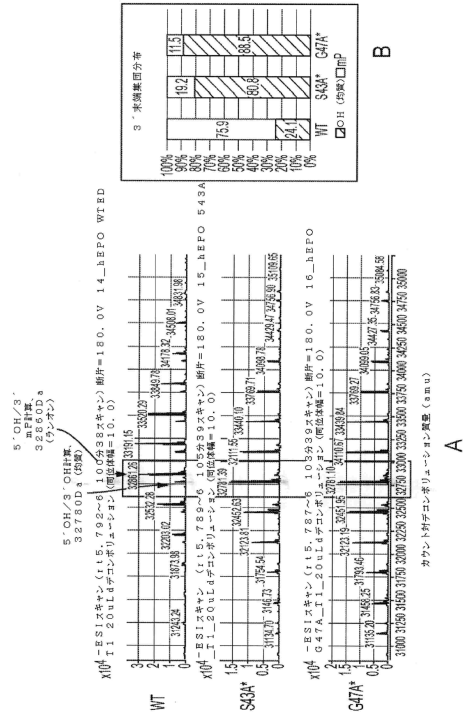
20

30

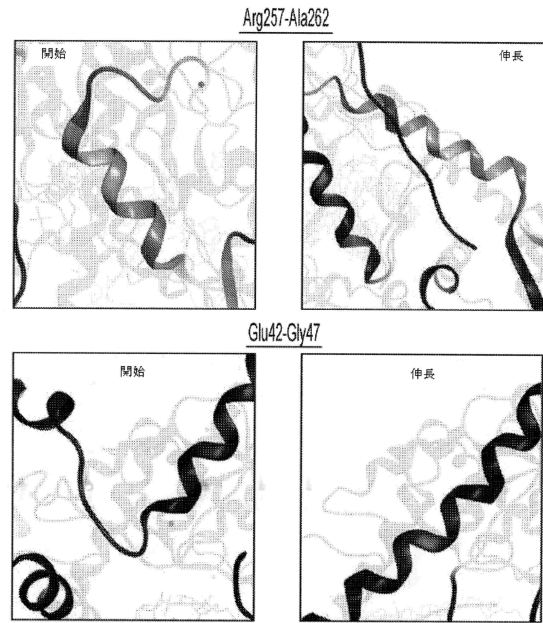
40

50

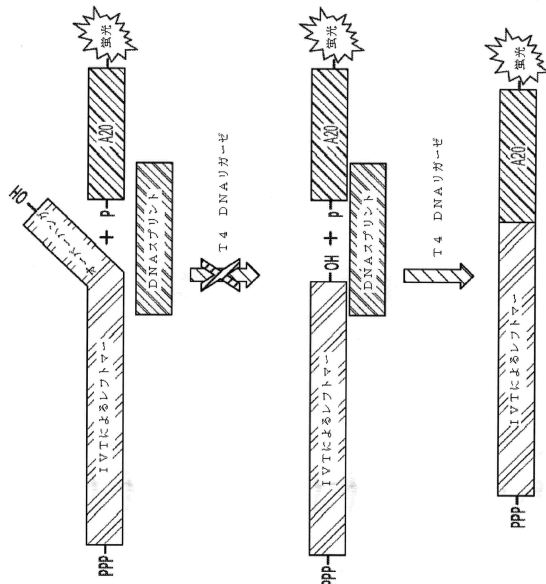
【図 9】



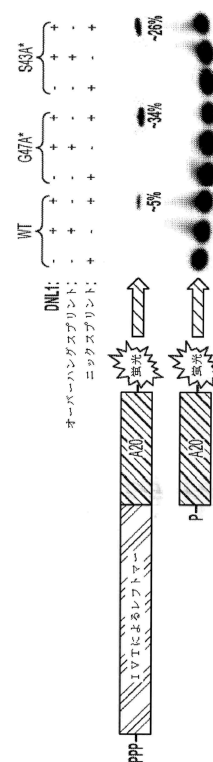
【図 10】



【図 11 A】



【図 11 B】



10

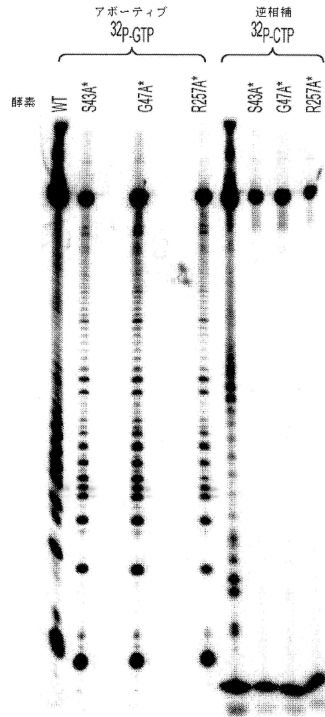
20

30

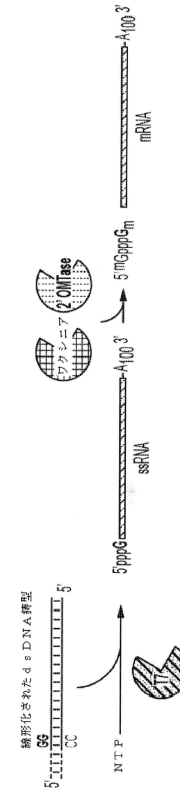
40

50

【図 1 2】



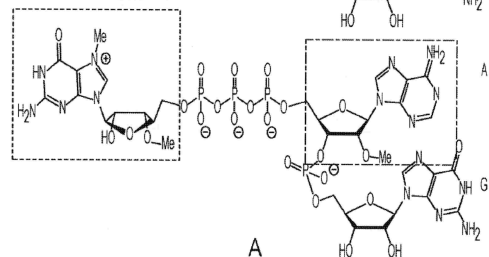
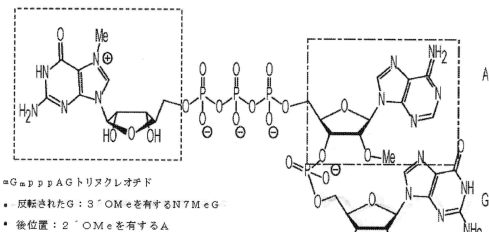
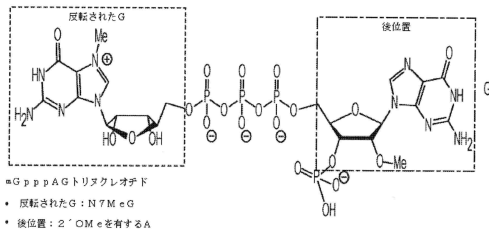
【図 1 3】



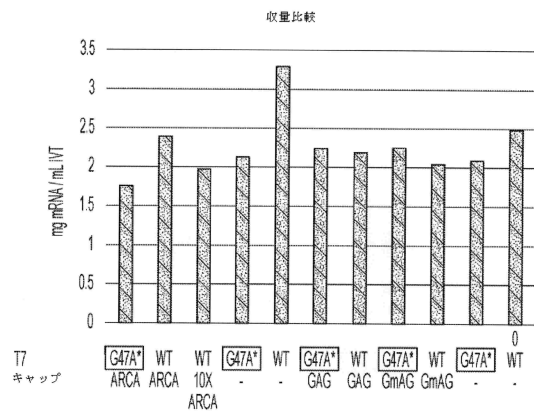
【図 1 4 - 1】

ワクレニアキャップ 1

- 反転されたG: N7MeG
- 後位置: 2'OMeを有するG



【図 1 4 - 2】



B

10

20

30

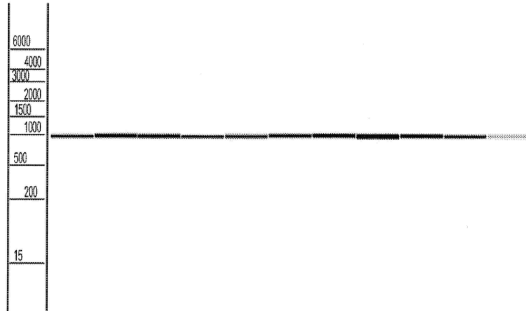
40

50

【 図 1 4 - 3 】

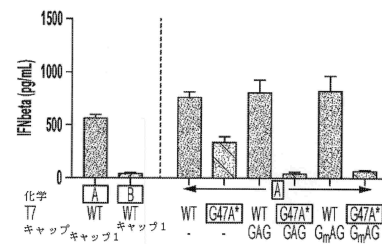
完全性 (F A)

T7 G47A* WT WT G47A* WT G47A* WT G47A* WT S47A WT
 キヤップ? ARCA ARCA 10X - - GAG GAG GmAG GmAG - -
 ARCA



C

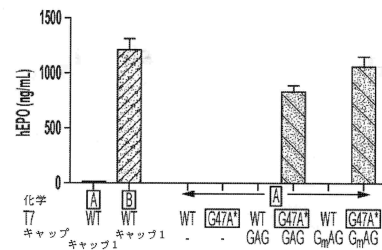
【 図 1 4 - 4 】

BJ 線維芽細胞における IFN β 応答

D

10

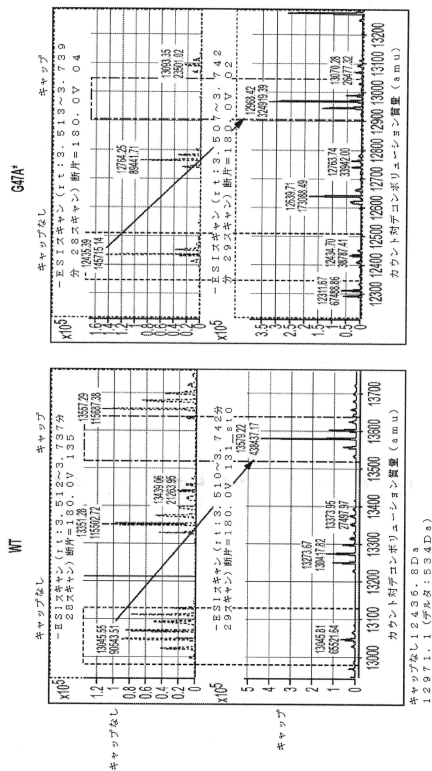
BJ 線維芽細胞における hEP 〇 発現



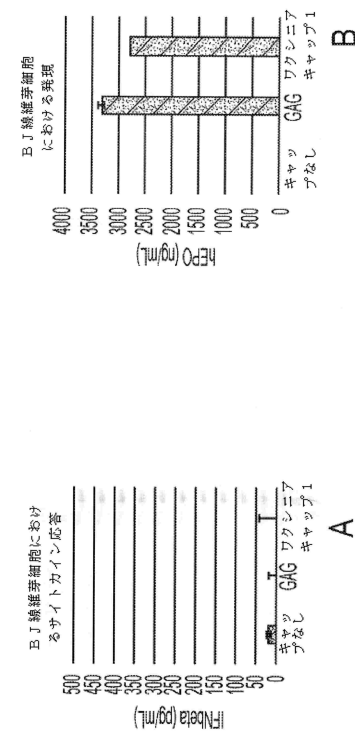
E

20

【 図 1 5 】



【 図 1 6 】

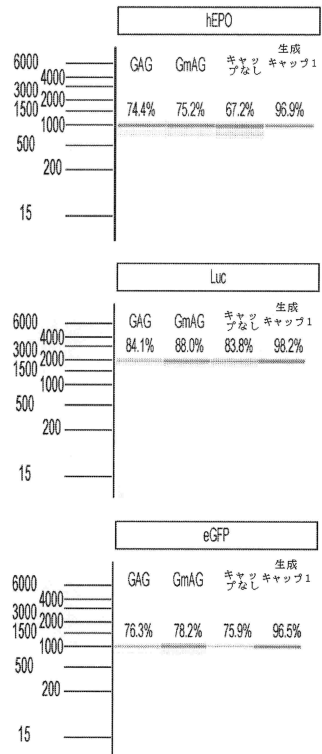


30

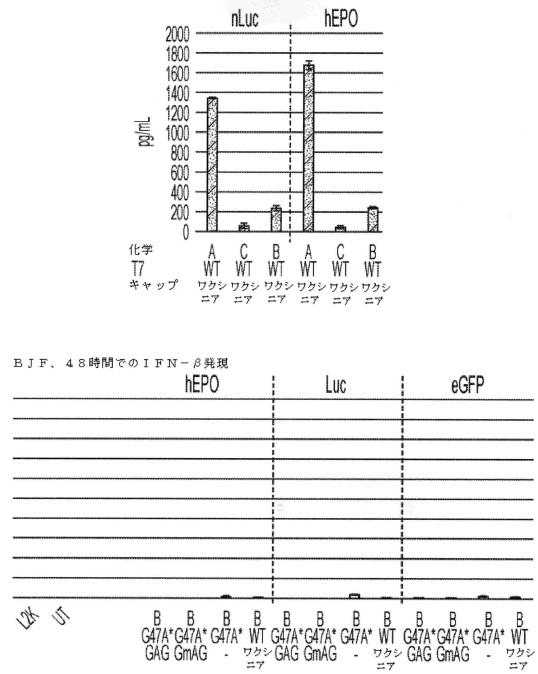
40

50

【図 19 B】



【図 19 C】

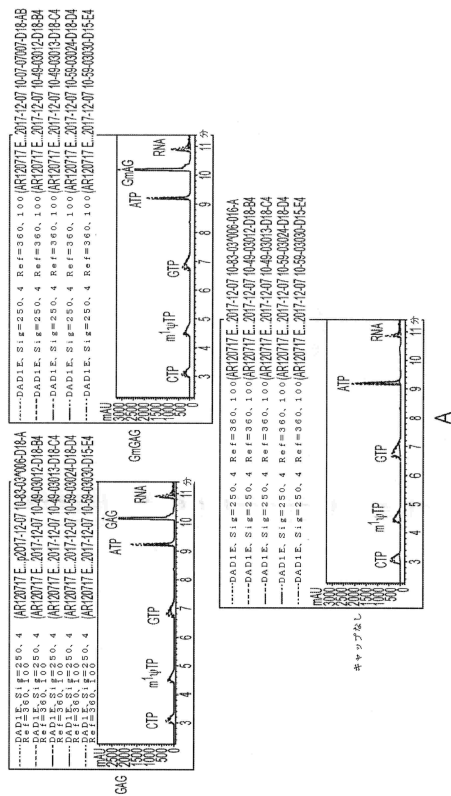


10

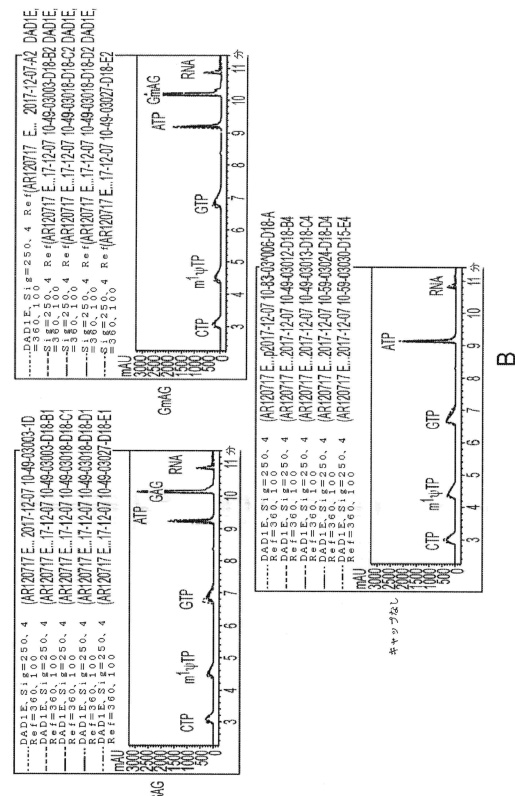


20

【図 20 - 1】



【図 20 - 2】

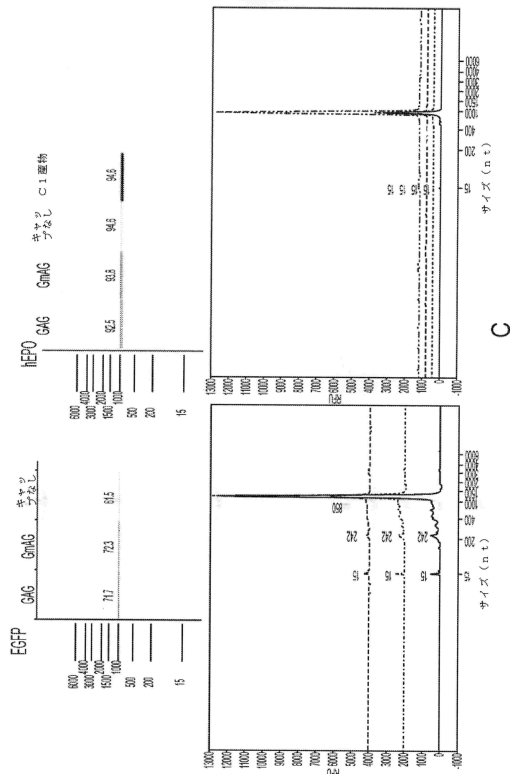


30

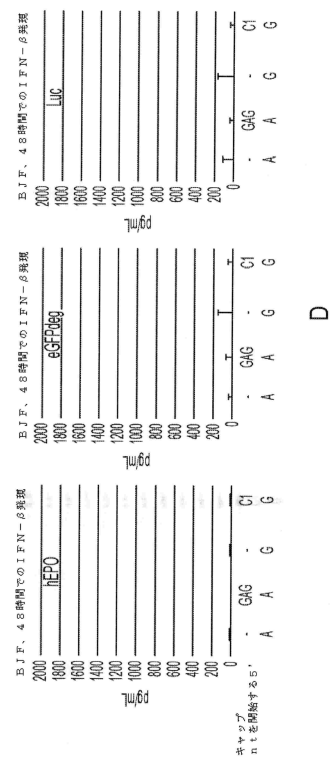
40

50

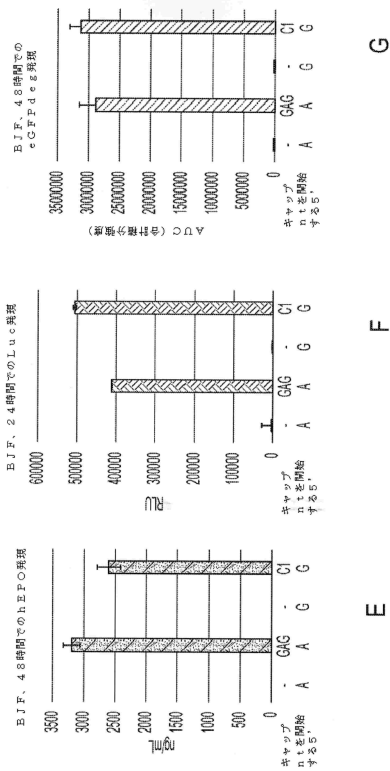
【図 20 - 3】



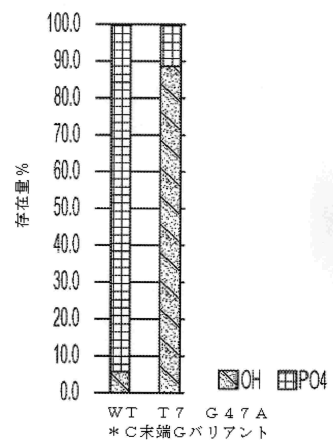
【図 20 - 4】



【図 20 - 5】



【図 21】



10

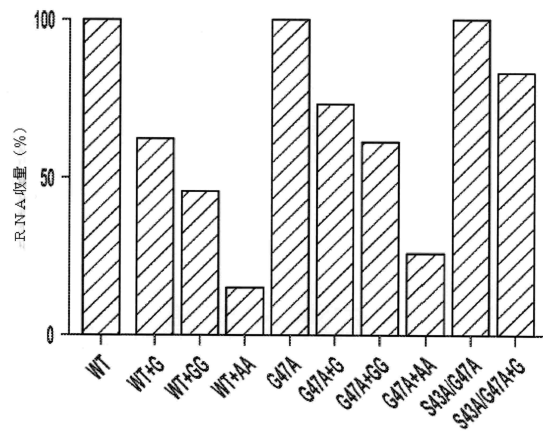
20

30

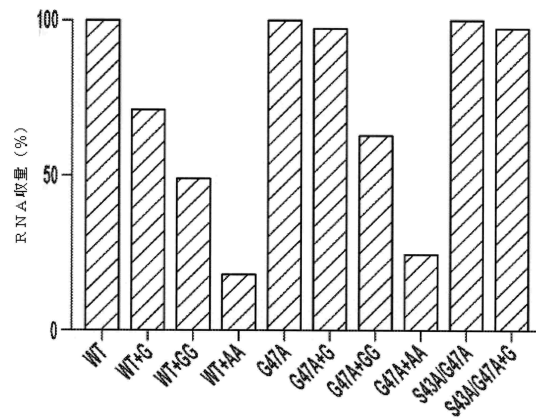
40

50

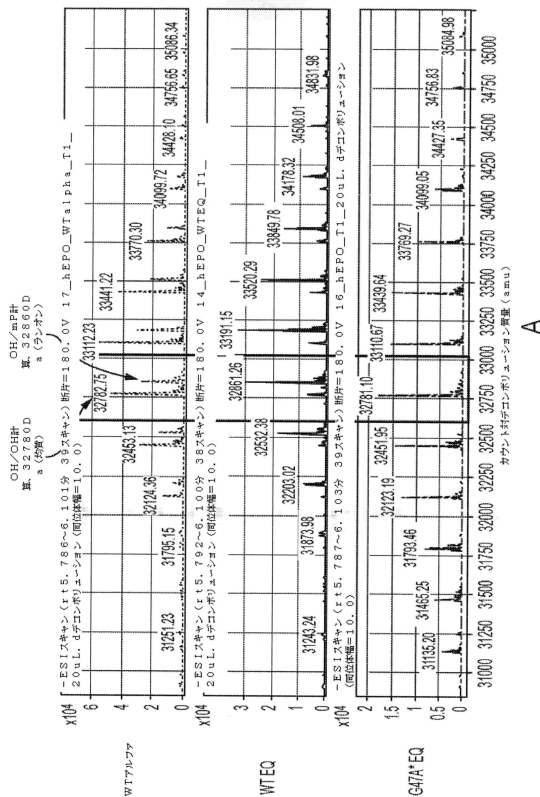
【図 2 2】



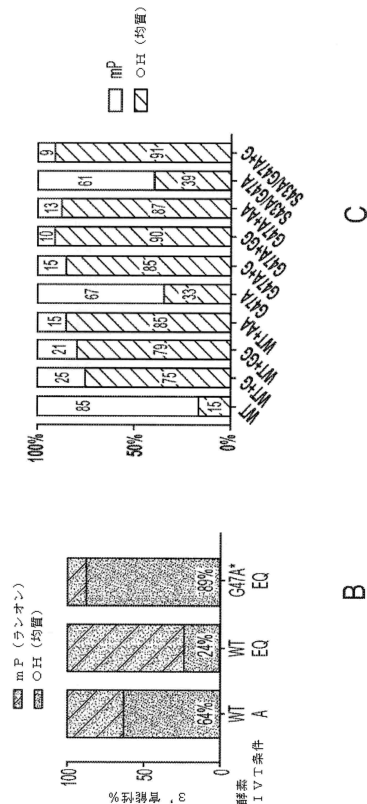
【図 2 3】



【図 2 4 - 1】



【図 2 4 - 2】



10

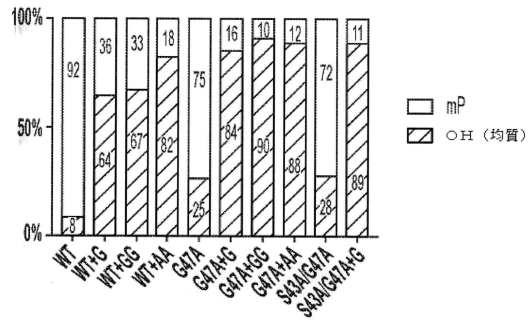
20

30

40

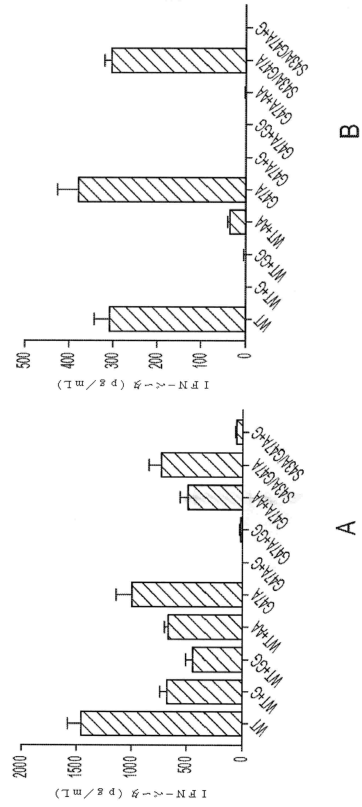
50

【図 2 4 - 3】

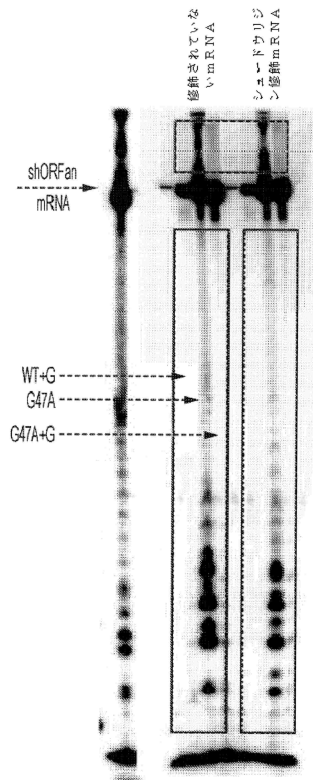


D

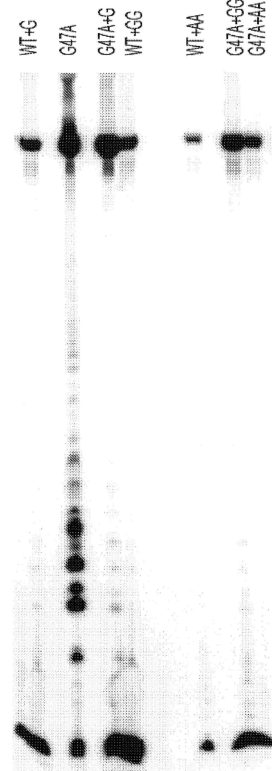
【図 2 5】



【図 2 6 A】



【図 2 6 B】



10

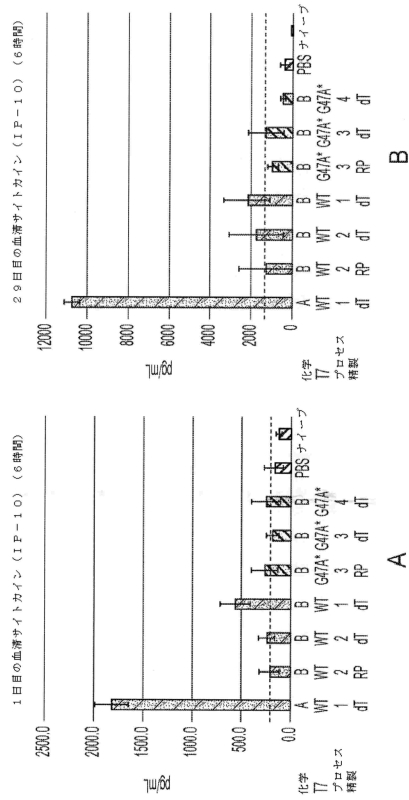
20

30

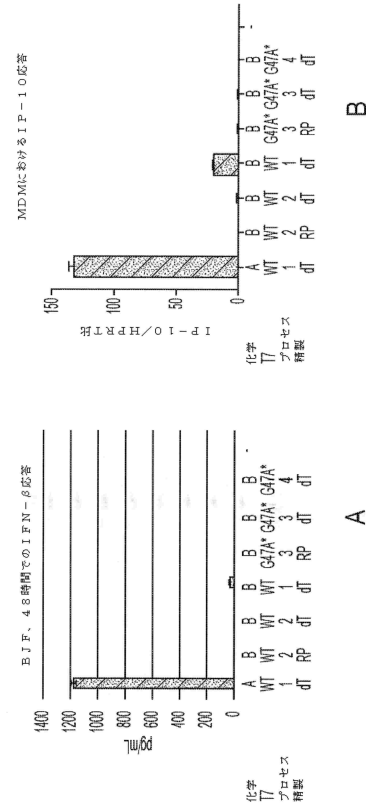
40

50

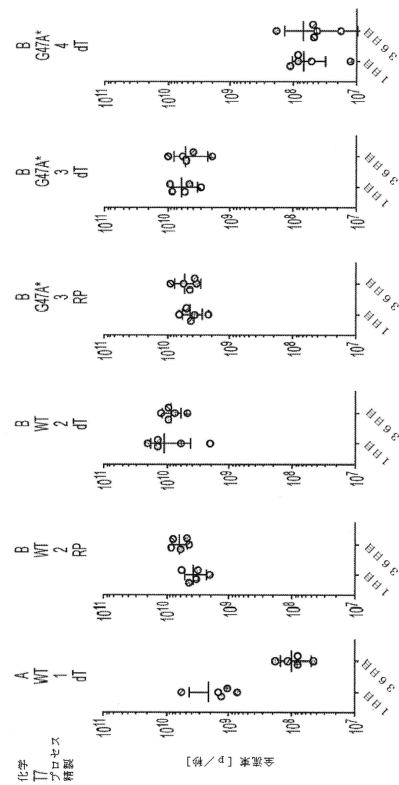
【 図 2 7 】



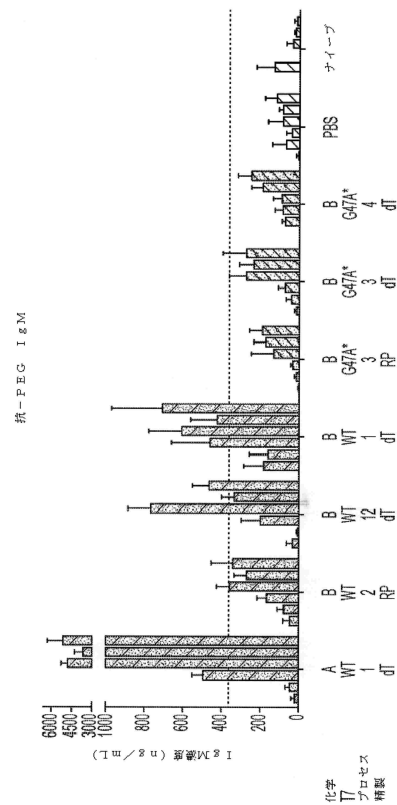
【 図 2 8 】



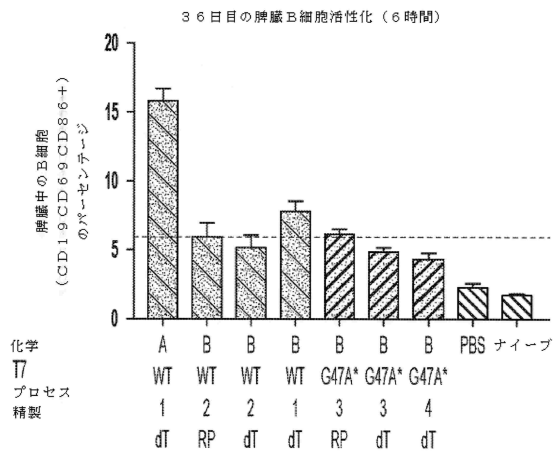
【 図 2 9 】



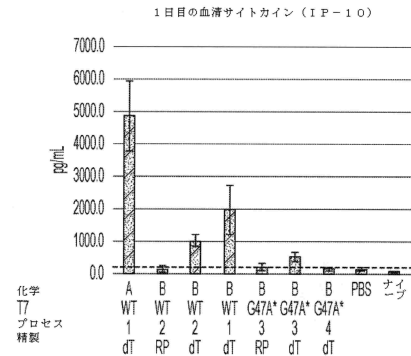
【図 30】



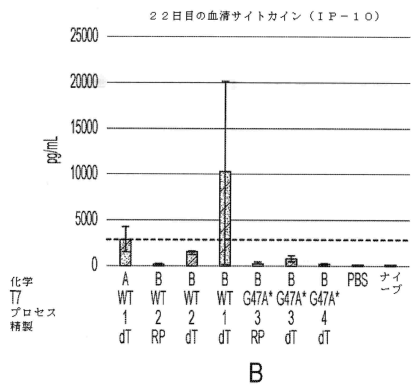
【図 3 1】



【図 3 2】

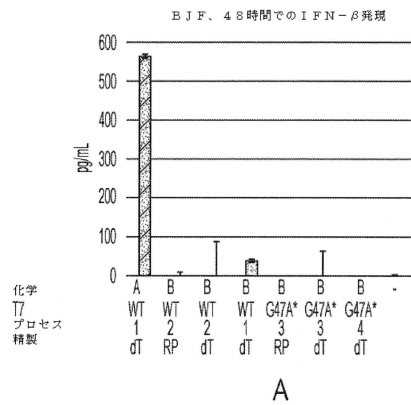


10

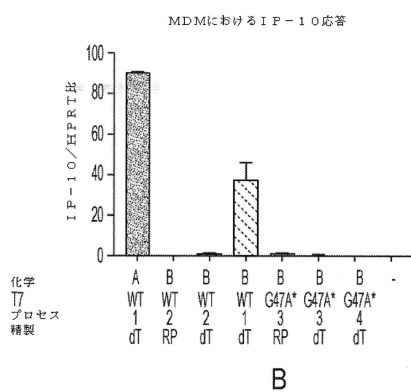


20

【図 3 3】

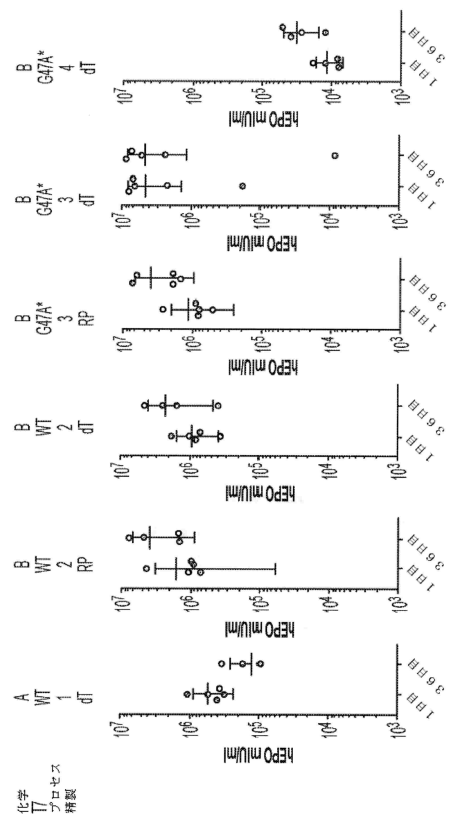


A



B

【図 3 4】

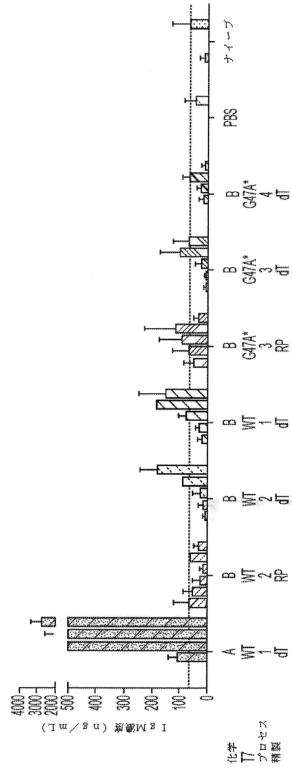


30

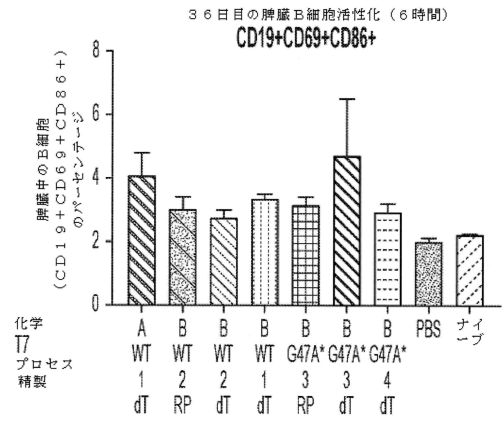
40

50

【図 3 5】



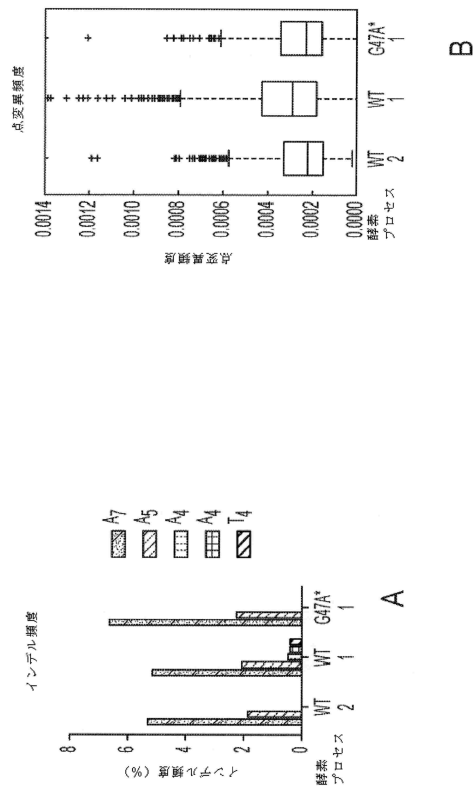
【図 3 6】



10

20

【図 3 7】



30

40

50

【配列表】

0007408098000001.app

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/638,684

(32)優先日 平成30年3月5日(2018.3.5)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/677,527

(32)優先日 平成30年5月29日(2018.5.29)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

前置審査

(72)発明者 アサナシオス・ドウシス

アメリカ合衆国・マサチューセッツ・02139・ケンブリッジ・フランクリン・ストリート・348・#4ビー

(72)発明者 カンチャナ・ラヴィチャンドラン

アメリカ合衆国・マサチューセッツ・02139・ケンブリッジ・マサチューセッツ・アヴェニュー・950・アパートメント・420

(72)発明者 エリサ・ホバート

アメリカ合衆国・マサチューセッツ・02140・ケンブリッジ・リンジ・アヴェニュー・205ビー

審査官 福澤 洋光

(56)参考文献 国際公開第2017/123748(WO, A1)

特開2011-223982(JP, A)

The Journal of Biological Chemistry, 2007年, Vol.282, No.31, pp.22879-22886

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C12N 1/00 - 15/90

C12Q 1/00 - 3/00

CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)

JSTPLUS/JMEDPLUS/JST7580(JDreamII)

UniProt/GeneSeq

PubMed